

Relatório no âmbito do projeto

Report on project

Valorização de Sobrantes Florestais - Produção, Caracterização e Qualificação do Óleo Essencial de *Cryptomeria japonica* D. Don

Abril, 2019

April, 2019



Centro de
Biotecnologia
Vegetal

CESAM Lisboa



Ciências
ULisboa

CQB
Centro
de Química
e Bioquímica

Centro de Biotecnologia Vegetal (CBV), CESAM Lisboa
Centro de Química e Bioquímica (CQB)

Cofinanciado por



GOVERNO
DOS AÇORES



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu de
Desenvolvimento Regional

Índice / Table of contents

CBV, CESAM Lisboa	1
Análise de óleo essencial / Essential oil analysis - <i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L.f.) D.Don.....	1
Análise por Cromatografia Gasosa (GC) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS)	1
Analysis by Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS).....	1
 CQB	 5
Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (^{13}C RMN)	5
Analysis by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^{13}C NMR).....	11

Análise de óleo essencial / Essential oil analysis - *Cryptomeria japonica* (Thunb. ex L.f.) D.Don

Análise por Cromatografia Gasosa (GC) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS)

Analysis by Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS)

Identificação do Produtor / Identification of the Producer

Produtor / Producer	Azorina S. A.
Responsável para contacto / Contact Name	António J. R. M. Almeida / Maria C. S. M. Rodrigues
Endereço / Address	Av. Antero de Quental 9 C 2ºAndar, 9500-160 Ponta Delgada, Açores, Portugal
Telefone / Phone	296240602
Email	Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt

Identificação da planta e momento de colheita / Plant identification and harvest time

Nome científico / Scientific name:	<i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L.f.) D.Don
Nome vulgar / Common name:	Criptoméria, Cedro-japonês / Japanese red-cedar
Família / Family:	Cupressaceae
Parte da planta / Plant part	<i>vide página seguinte / vide overleaf</i>
Floral ou Vegetativo / Floral or Vegetative	
Mês, ano de colheita / Harvest month, year	<i>vide página seguinte / vide overleaf</i>
Exemplar de herbário / Voucher code	
Código de colheita / Harvest code	

Identificação do local de cultura ou colheita / Identification of the place of cultivation or harvesting

Local, país / Place, country	<i>vide página seguinte / vide overleaf</i>
Cultivo, Espontânea / Cultivation, Wild harvest	Matas / Woods
Modo de cultivo / Cultivation method	

Identificação da amostra / Sample identification

Amostra / Sample:	Óleo essencial / Essential oil
Método de extração / Extraction procedure	<i>vide página seguinte / vide overleaf</i>
Tempo de extração / Extraction time	<i>vide página seguinte / vide overleaf</i>
Rendimento (% v/p.f. ou v/p.s.) / Yield (% v/f.w. or v/d.w.)	<i>vide página seguinte / vide overleaf</i>
Mês, ano de engarrafamento / Bottling month, year	
Validade / Shelf life	
Código da amostra / Sample code	<i>vide página seguinte / vide overleaf</i>

Análise do óleo essencial / Essential oil analysis

Identificação dos compostos por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS) e quantificação por Cromatografia Gasosa com Detetor de Ionização de Chama (GC-FID), como detalhado em Faria *et al.* (2016).

Volatiles were analyzed by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) for component identification, and by Gas Chromatography with Flame Ionization Detector (GC-FID), for component quantification, as detailed in Faria *et al.* (2016).

Faria *et al.* (2016) *J. Agric. Food Chem.* 64: 7452–7458

Tabela 1. Dados das amostras de óleo essencial de *Cryptomeria japonica* isoladas em abril de 2019.

Table 1. Data on *Cryptomeria japonica* essential oils samples, isolated in April 2019.

<i>Cryptomeria japonica</i> (L. fil.) D. Don						Óleo Essencial / Essential Oil			
Tipo de material		Sample type		Origem Provenance	MAC MYC	ME EP	TD DT (h:min)	R Yield (%, v/p)	Código Code
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Achadinha, Nordeste, S. Miguel, Açores	Apr-19	SD	2:00	0.24	19046A
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Achada, Nordeste, S. Miguel, Açores	Apr-19	SD	2:02	0.21	19046A2
Ramadas e bicadas com estróbilos femininos	Lote não estilhado	Branches from landscaping with ♀ strobili	Non-woodchips	Prainha, São Roque do Pico, Açores	Apr-19	SD	2:00	0.11	19044A P
Ramadas e bicadas com estróbilos femininos	Lote não estilhado	Branches from landscaping with ♀ strobili	Non-woodchips	Prainha, São Roque do Pico, Açores	Apr-19	SD	2:05	0.13	19044L P

MAC: Mês, ano de colheita. MYC: Month, year of collection. ME: Método de Extração. EP: Extraction Procedure. TD: Tempo de destilação. DT: Distillation time. R: Rendimento. HD: Hydrodistillation. SD: Steam distillation. * Óleo essencial obtido de material destilado no Pico, enquanto o restante material foi destilado em S. Miguel / Essential oil obtained from plant material steam-distilled in Pico, whereas the remaining material was distilled in S. Miguel.

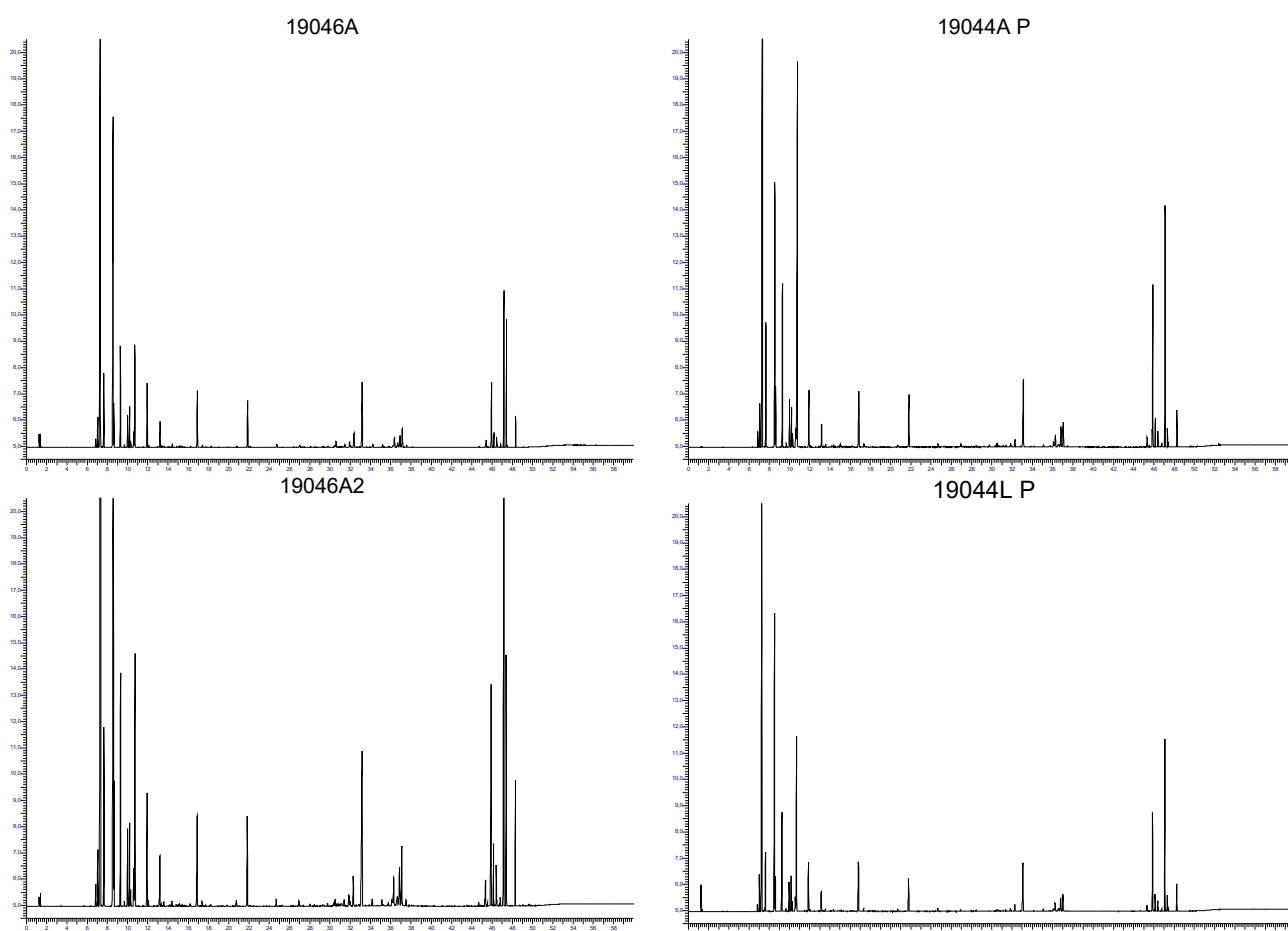


Fig. 1. Perfis cromatográficos das amostras analisadas. / **Fig. 1.** Gas chromatography profiles, taken on the DB-1 column, of the essential oils isolated from *Cryptomeria japonica* samples (for sample codes, see Table 1).

Tabela 2. Composição percentual das amostras de óleo essencial de *Cryptomeria japonica* isoladas em abril de 2019 (para códigos das amostras *vide* Tabela 1).

Table 2. Percentage composition of the essential oils isolated from *Cryptomeria japonica* samples in April 2019 (for sample codes, *vide* Table 1).

Componentes	Components	IR / RI	19046A	19046A2	19044A P	19044L P
Tricicleno	Tricyclene	921	0.4	0.3	0.4	0.3
α -Tujeno	α -Thujene	924	1.3	1.0	1.2	1.4
α -Pineno	α -Pinene	930	26.8	24.1	27.3	24.9
Canfeno	Camphene	938	3.1	2.6	3.5	2.2
Sabineno	Sabinene	958	17.6	14.1	8.4	14.1
β -Pineno	β -Pinene	963	1.8	1.5	1.6	1.2
β -Mirreno	β -Myrcene	975	4.7	4.3	4.5	4.1
α -Felandreno	α -Phellandrene	995	0.1	t	0.1	0.1
δ -3-Careno	δ -3-Carene	1000	1.4	1.2	1.3	1.2
α -Terpineno	α -Terpinene	1002	1.9	1.3	1.1	1.5
<i>p</i> -Cimeno	<i>p</i> -Cymene	1003	0.3	0.3	0.4	0.5
β -Felandreno	β -Phellandrene	1005	0.7	0.7	0.7	0.7
Limoneno	Limonene	1009	4.7	5.1	17.0	8.9
<i>cis</i> - β -Ocimeno	<i>cis</i> - β -Ocimene	1017	t	t	t	t
<i>trans</i> - β -Ocimeno	<i>trans</i> - β -Ocimene	1027	t	t	t	t
γ -Terpineno	γ -Terpinene	1035	3.0	2.1	1.7	2.4
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1037	0.1	0.1	t	0.1
2,5-Dimetil estireno	2,5-Dimethyl styrene	1059	t	t	t	0.1
Terpinoleno	Terpinolene	1064	1.2	0.9	0.8	1.0
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1066	t	t	t	t
Linalol	Linalool	1074	t	0.1	0.1	0.1
<i>trans</i> -Tujona	<i>trans</i> -Thujone	1081	t	t	t	t
Acetato de 1-octen-3-ilo	1-Octen-3-yl acetate	1086	t	t	t	t
α -Canfolenal	α -Campholenal	1092	t	t	t	t
<i>trans</i> - <i>p</i> -2-Menten-1-ol	<i>trans</i> - <i>p</i> -2-Menthen-1-ol	1099	0.2	t	0.1	0.1
Cânfora	Camphor	1102	t	t	0.1	t
<i>cis</i> - <i>p</i> -2-Menten-1-ol	<i>cis</i> - <i>p</i> -2-Menthen-1-ol	1114	t	t	t	t
<i>trans</i> -Pinocanfona (= <i>trans</i> -3-Pinanona)	<i>trans</i> -Pinocamphone (= <i>trans</i> -3-Pinanone)	1121	t	t	t	t
Borneol	Borneol	1134	t	t	t	t
<i>cis</i> -Pinocanfona	<i>cis</i> -Pinocamphone	1134	t	t	t	t
Terpinen-4-ol	Terpinen-4-ol	1148	3.2	2.3	2.3	3.1
Salicilato de metilo	Methyl salicylate	1159	t	t	t	t
α -Terpineol	α -Terpineol	1159	0.1	0.1	0.1	0.2
<i>cis</i> -Piperitol	<i>cis</i> -Piperitol	1182	t	t	t	t
<i>trans</i> -Piperitol	<i>trans</i> -Piperitol	1189	t	t	t	t
Acetato de α -fenchilo	α -Fenchyl acetate	1200	t	t	t	t
Piperitona	Piperitone	1211	t	t	t	t
Geraniol	Geraniol	1236	t	t	t	t
Acetato de linalilo	Linalyl acetate	1245	t	0.1	0.1	0.1
<i>trans</i> -Anetole	<i>trans</i> -Anethole	1254	t	t	t	t
Acetato de bornilo	Bornyl acetate	1265	2.5	2.1	2.2	2.2
Acetato de <i>cis</i> -verbenilo	<i>cis</i> -Verbenyl acetate	1266	t	t	t	t
Acetato de α -terpenilo	α -Terpenyl acetate	1334	0.2	0.2	0.2	0.3
α -Cubebeno	α -Cubebene	1345	t	t	t	t
Acetato de geraniol	Geranyl acetate	1370	t	t	t	t
α -Copaeno	α -Copaene	1375	t	t	t	t
β -Bourboneno	β -Bourbonene	1379	t	t	t	t
β -Elemeno	β -Elemene	1388	0.1	0.1	0.2	0.2
β -Cariofileno	β -Caryophyllene	1414	t	t	t	0.1
β -Copaeno	β -Copaene	1426	t	t	0.1	0.1
α -Humuleno	α -Humulene	1447	t	t	t	t
γ -Muuroloeno	γ -Muurolene	1469	t	t	0.1	0.2
Germacreno D	Germacrene D	1474	0.3	0.2	0.1	0.1
Biciclogermacreno	Bicyclogermacrene	1487	t	t	t	t
α -Muuroloeno	α -Muurolene	1494	0.2	0.2	0.1	0.2
β -Bisaboleno	β -Bisabolene	1500	0.3	0.3	0.2	0.3
γ -Cadineno	γ -Cadinene	1500	t	0.1	0.1	0.1
<i>trans</i> -Calameneno	<i>trans</i> -Calamenene	1505	t	t	t	t
δ -Cadineno	δ -Cadinene	1505	0.8	0.6	0.4	0.6
Elemol	Elemol	1530	4.5	5.8	3.6	3.9
<i>trans</i> -Nerolidol	<i>trans</i> -Nerolidol	1549	t	t	t	t
Germacreno D-4-ol *	Germacrene D-4-ol *	1557	0.2	0.2	t	0.1
Óxido de β -cariofileno	β -Caryophyllene oxide	1561	t	t	t	t
Cedrol	Cedrol	1574	t	t	0.1	t
Anidrooplopanona	Anhydrooplopanone (= β -Oplopanone)	1576	0.2	0.2	0.1	0.2
10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol	10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol	1593	0.1	0.1	0.1	0.1
γ -Eudesmol	γ -Eudesmol	1609	0.6	0.8	0.7	0.6
T-Cadinol	T-Cadinol	1616	0.1	0.2	0.1	0.2

Componentes	Components	IR / RI	19046A	19046A2	19044A P	19044L P
T-Muurolol	T-Muurolol	1616	0.2	0.2	0.1	t
α -Muurolol (= δ -Cadinol)	α -Muurolol (= δ -Cadinol)	1618	0.2	0.1	t	t
β -Eudesmol	β -Eudesmol	1620	0.8	1.2	1.0	1.2
α -Cadinol	α -Cadinol	1626	0.2	0.6	t	t
α -Eudesmol	α -Eudesmol	1634	1.0	1.0	1.3	1.5
Criptomeriona *	Cryptomerione *	1686	t	t	t	t
Acetato de oplopanoilo *	Oplopanoyl acetate *	1808	t	t	t	t
Rimueno	Rimuene	1814	t	t	t	t
Isopimara-9(11),15-dieno	Isopimara-9(11),15-diene	1821	0.4	0.5	0.4	0.5
NI 1	UI 1	1915	2.5	0.4	t	t
NI A'	UI A'	1915	0.3	3.5	5.4	5.8
NI 2 (Isokaurene *)	UI 2 (Isokaurene *)	1915	t	t	t	t
NI 3	UI 3	1924	0.5	1.0	0.7	0.9
Sandaracopimara-8(14),15-dieno	Sandaracopimara-8(14),15-diene	1956	0.5	0.8	0.6	0.7
Isofilocladeno *	Isophyllocladene *	1956	t	t	t	t
NI F Propolis Arg	NI F Propolis Arg	1977	0.1	0.1	0.1	0.1
3' Cryptomeria	3' Cryptomeria	1977	0.1	0.1	0.1	0.1
Filocladeno*	Phyllocladene	2006	5.4	11.2	7.1	8.8
Caureno	Kaurene	2044	4.3	4.0	0.5	0.8
Abietadieno	Abietadiene	2060	t	t	t	t
NI 4	UI 4 (Nezukol *)	2176	0.9	1.4	0.7	1.2
Phyllocladanol *	Phyllocladanol *	2200	t	t	t	t
% Identificação	% identification		95.7	92.9	92.2	91.3
Componentes agrupados	Grouped components					
Hidrocarbonetos monoterpénicos	Monoterpene hydrocarbons		69.0	59.5	71	64.5
Monoterpenos oxigenados	Oxygen-containing monoterpenes		6.3	5.0	5.2	6.2
Hidrocarbonetos sesquiterpénicos	Sesquiterpene hydrocarbons		1.7	1.5	1.3	1.9
Sesquiterpenos oxigenados	Oxygen-containing sesquiterpenes		8.1	10.4	7.1	7.8
Hidrocarbonetos diterpénicos	Diterpene hydrocarbons		10.6	16.5	8.6	10.8
Diterpenos oxigenados	Oxygen-containing diterpenes		t	t	t	t
Fenilpropanóides	Phenylpropanoids		t	t	t	t
Outros	Others		t	t	t	0.1

IR – Índices de retenção calculados relativamente a uma série de *n*-alcanos C₉-C₂₂ numa coluna DB-1, * Identificação baseada apenas no espectro de massa, NI – Compostos não identificados, t – em Português, v: vestigial (<0.05%).

RI - Retention index calculated relative to C₉-C₂₂ *n*-alkanes on the DB-1 column, * identification based on mass spectra only, UI – unidentified compounds, t - trace (<0.05%).

Agradecimentos: ao CESAM no âmbito do UID/AMB/50017 - POCI-01-0145-FEDER-007638, financiado pela FCT/MCTES e cofinanciado pelo FEDER e Compete 2020, e ao projeto SAI-AZOR/2018/392.

Acknowledgments: Thanks are due to CESAM UID/AMB/50017 - POCI-01-0145-FEDER-007638, supported by FCT/MCTES and the co-funding by FEDER and Compete 2020, and to project SAI-AZOR/2018/392.



GOVERNO
DOS AÇORES



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu de
Desenvolvimento Regional

Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (^{13}C RMN)

Projeto: Valorização de Sobrantes Florestais – Produção, Caracterização e Qualificação de Óleo Essencial de *Cryptomeria japonica* D.Don

Serviço prestado: Análise qualitativa de óleos essenciais (OEs) de *Cryptomeria japonica* dos Açores por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (^{13}C RMN).

Produtor: Azorina S. A.

Responsável Projeto: António J. R. M. Almeida / Maria Conceição S. M. Rodrigues

Email: Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt; Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt

Nome científico: *Cryptomeria japonica* D.Don

Nome comum: Criptoméria, cedro-japonês

Locais de recolha: Achadinha, Nordeste, São Miguel, (**6A**); Achada, Nordeste, São Miguel (**6A2**); Pico Terra, Prainha do Pico (**4AP**); Pico Rochoso, Prainha do Pico, (**4LP**); Açores, Portugal.

Tipo de mata: Cultivo

Ano / mês de recolha: 2019 / 04

Cota: 4 e 6

Tipo de solo: Andossolo (A) e Litossolo (L)

Parte da planta: parte aérea – ramadas, bicadas e estróbilos masculinos (RB+E)

Método de extração: Destilação por arrastamento de vapor

Amostra: 4 Óleos essenciais (OE); **6A** e **6A2** (São Miguel); **4AP** e **4LP** (Pico)

Tabela 1. Amostras de OEs de *C. japonica* referentes a abril de 2019, condições e rendimento de extração.

Código (ano; mês; cota; tipo de solo; nº da amostra)	Processamento da planta (Estado da planta)	Tipo de Mata	Tempo de destilação (h:min)	Rendimento (%, p/p)
19046A	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:00	0,24
19046A2	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:02	0,21
19044AP*	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:00	0,11
19044LP*	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:03	0,13

*Destilação de arrastamento por vapor na ilha do Pico

Em simultâneo com as análises de GC e GC-MS dos OEs procedeu-se à análise por ^{13}C RMN das 4 amostras de OEs de *C. japonica*, representativas do mês de abril de 2019 fornecidos pela Azorina S.A.. Assim, seguindo o mesmo procedimento das amostras analisadas dos meses anteriores procedeu-se à análise comparativa da constituição química dos dois OEs da Ilha de São Miguel, **6A** e **6A2** e dois OEs da Ilha Pico **4AP** e **4LP**.

Relativamente aos OEs da ilha de São Miguel, o perfil químico de ^{13}C RMN do OE de abril (**19046A**) comparativamente ao OE do mês anterior (**18036A**) da mesma cota e da mesma região, é ligeiramente diferente. Deteta-se que, o OE **19046A** é constituído maioritariamente por α -pineno e sabineno com uma ligeira diminuição deste último. A variação mais significativa surge na diminuição considerável de filocladeno e aumento de *ent*-caureno, contrariamente ao OE do mês anterior em que o filocladeno existia em percentagem significativa e o *ent*-caureno era vestigial. Todos os outros constituintes, já anteriormente identificados, estão em percentagens muito idênticas, com exceção do limoneno que sofre uma ligeira redução comparativamente ao OE do mês anterior (Anexo, Figura 1).

O perfil químico de ^{13}C RMN do OE de abril, 1904**6A2**, da mesma cota e da mesma região, é semelhante ao do OE do mês anterior (1903**6A2**), observando-se no primeiro uma diminuição ligeira de sabineno, limoneno e uma redução considerável de filocladeno, com aumento ligeiro de *ent*-caureno (Anexo, Figura 2). Esta variação dos constituintes maioritários do OE 1904**6A2** é semelhante ao do OE 1904**6A** anteriormente analisado, embora não seja tão evidente no OE de A2.

Em conclusão, os OEs do mês de abril (6A da Achadinha e 6A2 da Achada), têm um perfil químico idêntico. A maior diferença no OE deste mês (1904**6A**) reside no acréscimo de *ent*-caureno e redução de filocladeno como se pode observar na Figura 3 do Anexo.

Procedeu-se à análise dos OEs do mês de abril da ilha do Pico que foram extraídos por arrastamento de vapor num destilador na própria ilha. O perfil químico de ^{13}C RMN destes OEs da mesma cota, mas de solos diferentes, andossolos (4**AP**) e litossolos (4**LP**), apresentam a mesma constituição química, mas as percentagens dos seus constituintes variam. Os OEs da ilha do Pico (19044**AP** e 19044**LP**) são constituídos maioritariamente por α -pineno, sabineno, filocladeno e limoneno, seguindo-se em menores percentagens, β -mirceno, elemol, terpinen-4-ol, acetato de bornilo, α - e γ -terpineno, com *ent*-caureno praticamente inexistente (Anexo, Figura 4). No entanto, o OE de andossolos, (19044**AP**), comparativamente com o OE de litossolos (19044**LP**), apresenta uma percentagem de limoneno semelhante à de α -pineno e superior à de sabineno, sendo este último também inferior ao filocladeno (Anexo, Figura 4).

Anexo- Figuras 1, 2, 3 e 4.

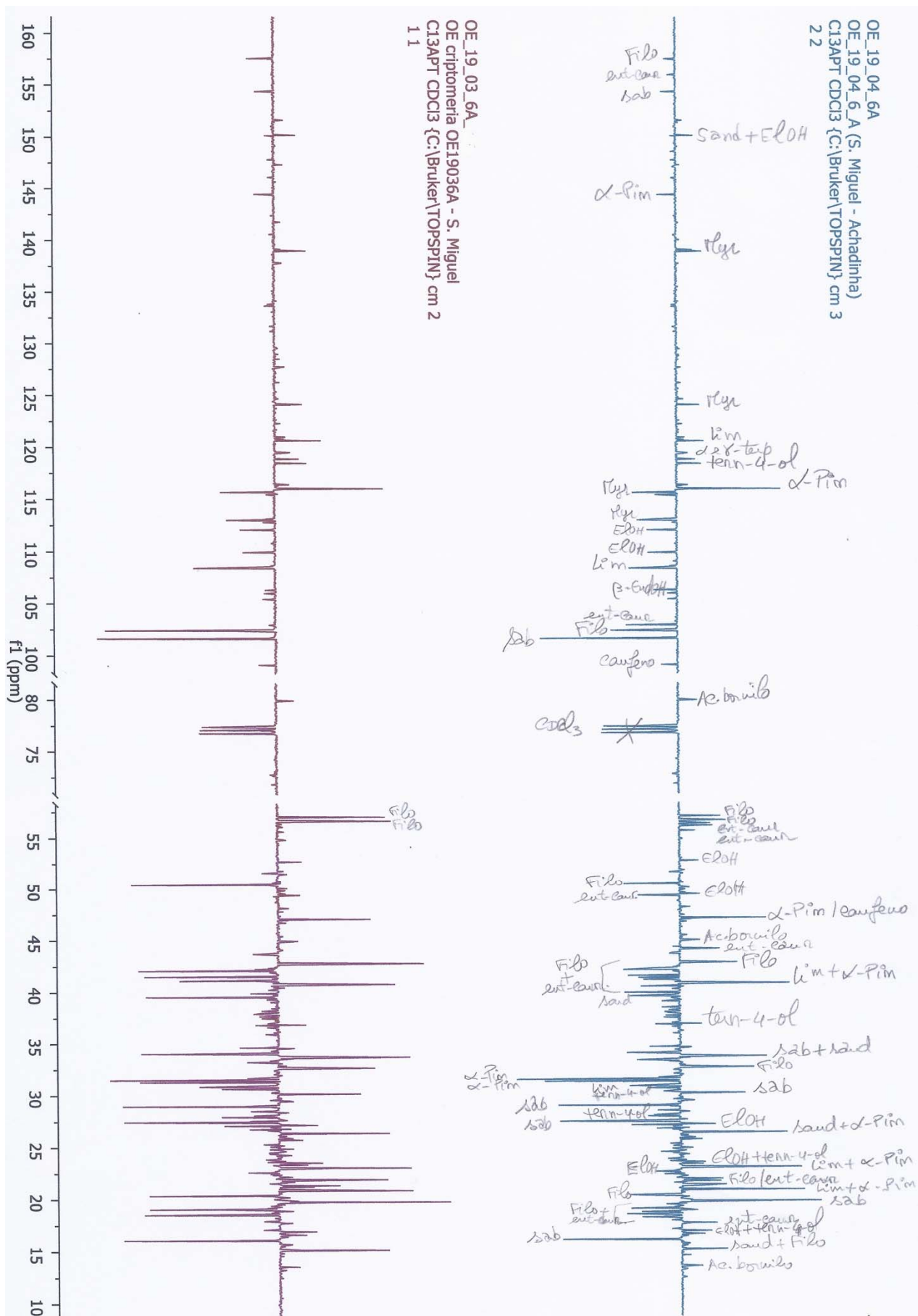


Figura 1. Comparação dos espectros de ^{13}C RMN (APT) dos OEs de **19046A** e **19036A** da ilha de São Miguel em CDCl_3 (δ 10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos: **α -Pin**- α -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno; **α -** e **γ -Terp** – Terpineno; **Tern-4-ol** – Terpinen-4-ol; **EIOH** – Elemol; **Filo** – Filocladeno; **ent-Caur** – ent-Caureno; **Sand** – Sandaracopamaradieno; **Ac. bornilo** – acetato de bornilo; canfeno.

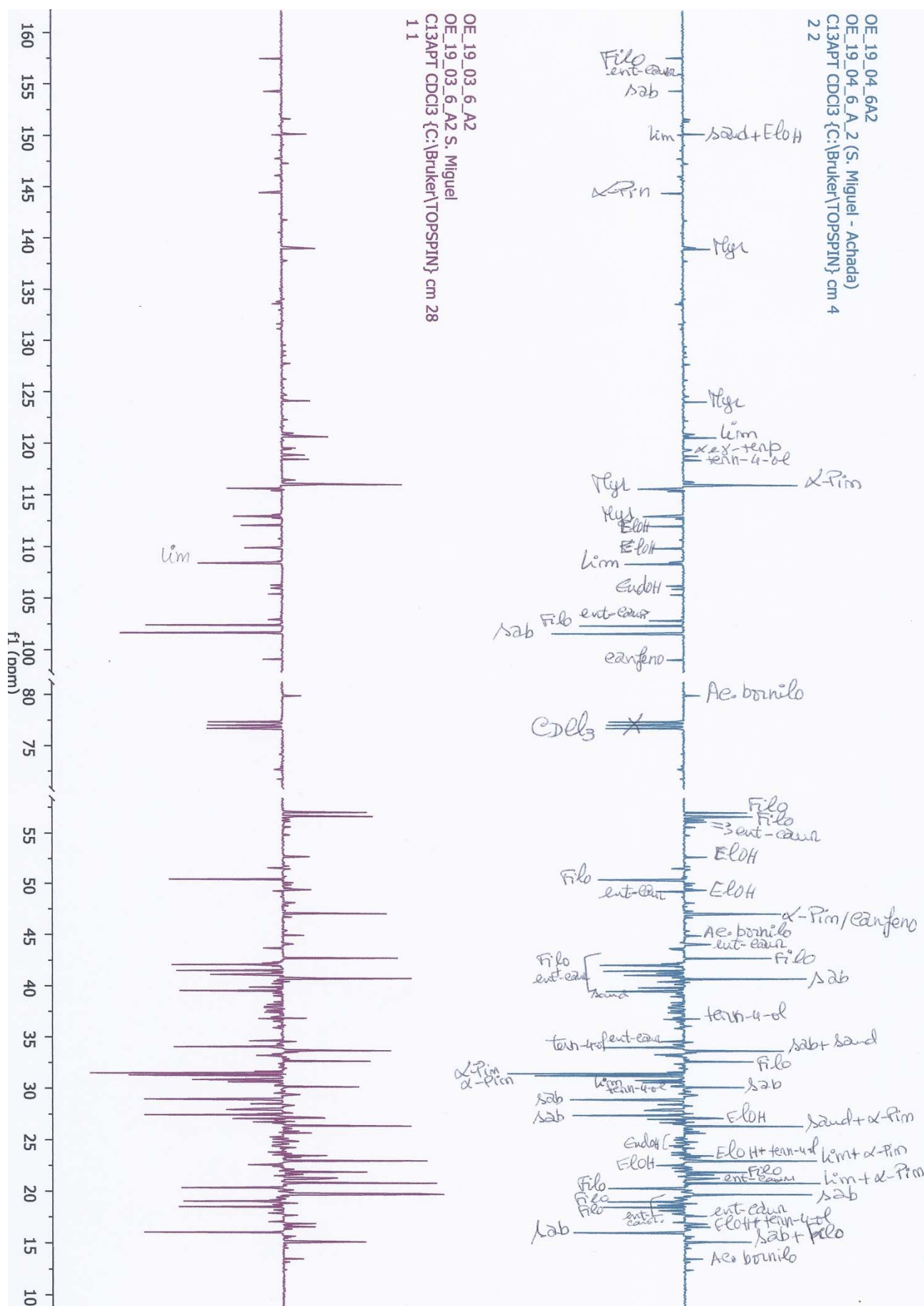


Figura 2- Comparação dos espectros de ^{13}C RMN (APT) dos OEs de **18046A2** e **19036A2**, em CDCl_3 (δ 10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos: **α -Pin** – α -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno; **α - e γ -Terp** – α - e γ -Terpineno; **Tern-4-ol** – Terpinen-4-ol; **EIOH** – Elemol; **Filo** – Filocladeno; **ent-Caur** – ent-Caureno; **Sand** – Sandaracopamaradieno; **Ac. bornilo** – Acetato de bornilo; canfeno.

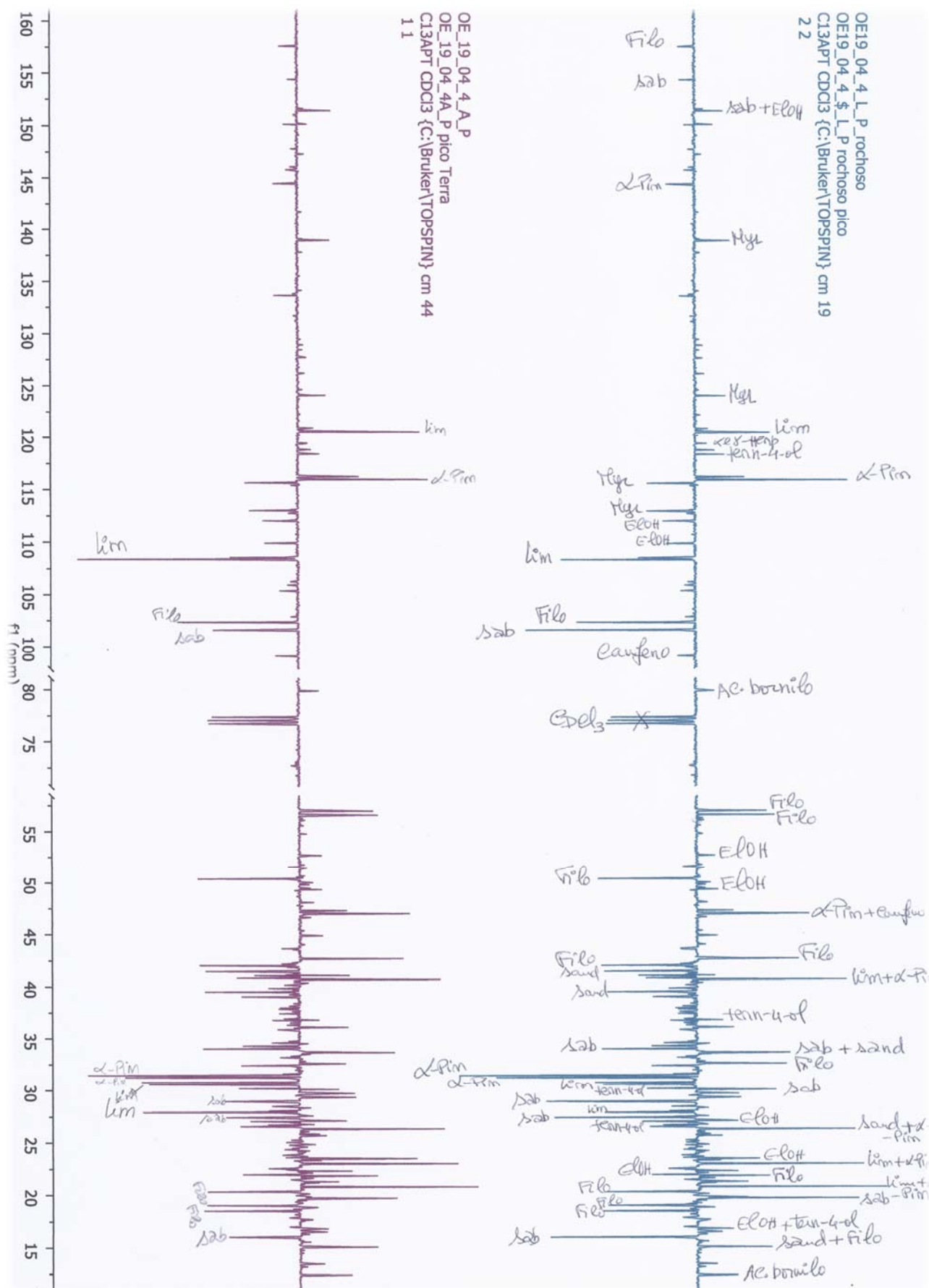


Figura 4- Espectro comparativo dos ^{13}C RMN (APT) dos OEs de **19044LP** e **19044AP** em CDCl_3 (δ 10 –170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos: **α -Pin** – α -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno; **α - e γ -Terp** – α - e γ -Terpineno; **Tern-4-ol** – Terpinen-4-ol; **EIOH** – Elemol; **Filo** – Filocladeno; **ent-Caur** – ent-Caureno; **Sand**- Sandaracopamaradieno; **EudOH** – Eudesmol; **Ac. bornilo** – Acetato de bornilo; canfeno.

Agradecimentos: ao CQB no âmbito do projeto UID/MULTI/0062/2013 financiado pela FCT/MCTES e ao projeto SAI-AZOR/2018/392.

Analysis by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^{13}C NMR)

Project: Valorisation of Forestry Residues – Production, Characterization and Quantification of Essential Oils of *Cryptomeria japonica* D. Don

Service provided: Qualitative Analysis of Essential Oils (EOs) of *Cryptomeria japonica* from Azores by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^{13}C NMR).

Producer: Azorina S. A.

Project manager: António J. R. M. Almeida / Maria Conceição S. M. Rodrigues

Email: Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt; Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt

Scientific name: *Cryptomeria japonica* D. Don

Common name: Japanese cedar; Sugi

Place of collection: Achadinha, Northeast, São Miguel (**6A**); Achada, Northeast, São Miguel, (**6A2**); Pico Terra, Prainha do Pico (**4AP**); Pico Rochoso, Prainha do Pico, (**4LP**); Azores, Portugal.

Type of forest: Cultivar

Production Year / production month: 2019 / 04

Quota: 4 and 5

Type of soils: Andosols (A); Lithosols (L)

Part of plant: Aerial parts – Strobilus and branches from landscaping (RB+E)

Extraction procedure: Steam-distillation

Sample: 4 Essential Oils (EOs); **6A** and **6A2** (São Miguel Island); **4LP** and **4AP** (Pico Island)

Table 1. Samples of *C. japonica* EOs collected in April 2019 and extraction conditions.

Code (Year; month; quota; soil type; sample number)	Plant processing (Plant state)	Type of forest	Distillation time (h:min)	Yield (%, w/w)
19046 ^A	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:00	0.24
19046A2	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:02	0.21
19044AP*	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:00	0.11
19044LP*	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:03	0.13

*Steam-distillation at Pico Island

Four samples of *C. japonica* EOs, representative of April 2019 provided by Azorina S.A., were analyzed by the ^{13}C NMR technique simultaneously with the GC and GC-MS analyzes. Thus, following the same procedure used for the other samples from previous months, a comparative analysis of the chemical constituents of the two EOs **6A** and **6A2** from São Miguel Island, and two OEs **4AP** and **4LP** from Pico Island, was progressed.

Analysis of ^{13}C RMN chemical profiles of São Miguel Island EOs showed that the EO **19046A** (same quote and region), has slightly differences from March EO1903**6A**. The main constituents of EO 1904**6A** are α -pinene and sabinene, whit the former slight decreasing. Contrarily to March EO, a substantial reduction of phyllocladene and an increase of *ent*-kaurene were observed in the EO**19046A**. It should be noted that *ent*-kaurene was vestigial amount in 1903**6A** EO sample. All the other constituents of the April EO (**19046A**), are presented in similar percentages with a reduction of limonene (Annex, Figure 1).

The ^{13}C RMN chemical profiles of EOs, 1904**6A2** and 1903**6A2** are comparable. In EO 1904**6A2** a slightly reduction of sabinene, limonene, a significantly decrease of phyllocladene, and an increase of *ent*-kaurene were detected (Annex, Figure 2). This chemical variation of EO 1904**6A2** is also observed for the **19046A** EO however, being this variation more evident in the last EO (6A).

In conclusion, April EOs (**6A** from Achadinha and **6A2** from Achada), have a similar chemical profiles. The principal difference consists in an increase of *ent*-kaurene and reduction of phyllocladene, as shown Figure 3 of annex.

Analysis of ^{13}C RMN chemical profiles April EOs, from Pico Island obtained by steam-distillation at same island, were performed. Both EO from same quote but different soils, andosols (4AP) and lithosols (4LP) have similar chemical composition nevertheless their percentages varied. α -Pinene, sabinene, phyllocladene and limonene are the mainly constituents of Pico EOs (19044AP and 19044LP) following β -myrcene, elemol, terpinen-4-ol, bornyl acetate, α - and γ -terpinene, as minor percentages and no presence of *ent*-kaurene was detected (Annex, Figure 4). However, the andosols EO (**19044AP**) presented similar amounts of limonene and α -pinene and this higher than sabinene, which is also minor than phyllocladene (Annex, Figure 4).

Figures 1, 2, 3 and 4 were illustrated in pages 7 to 10.

Acknowledgments: Thanks are due to CQB, UID/MULTI/0062/2013 project funding by FCT/MCTES and to project SAI-AZOR/2018/392.



GOVERNO
DOS AÇORES



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu de
Desenvolvimento Regional