

## Relatório no âmbito do projeto

## Report on project

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

Junho, 2019

June, 2019



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 $^{13}\text{C}$ ( $^{13}\text{C}$ RMN).....	5
Analysis by $^{13}\text{C}$ Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^{13}\text{C}$ NMR) .....	13



**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	<a href="mailto:Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt">Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt</a> <a href="mailto:Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt">Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt</a>

**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	vide página seguinte / vide overleaf
Floral ou Vegetativo / Floral or Vegetative	
Mês, ano de colheita / Harvest month, year	vide página seguinte / vide overleaf
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	vide página seguinte / vide overleaf
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	vide página seguinte / vide overleaf
Tempo de extração / Extraction time	vide página seguinte / vide overleaf
Rendimento (% v/p.f. ou v/p.s.) / Yield (% v/f.w. or v/d.w.)	vide página seguinte / vide overleaf
Mês, ano de engarrafamento / Bottling month, year	
Validade / Shelf life	
Código da amostra / Sample code	vide página seguinte / vide overleaf

**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).

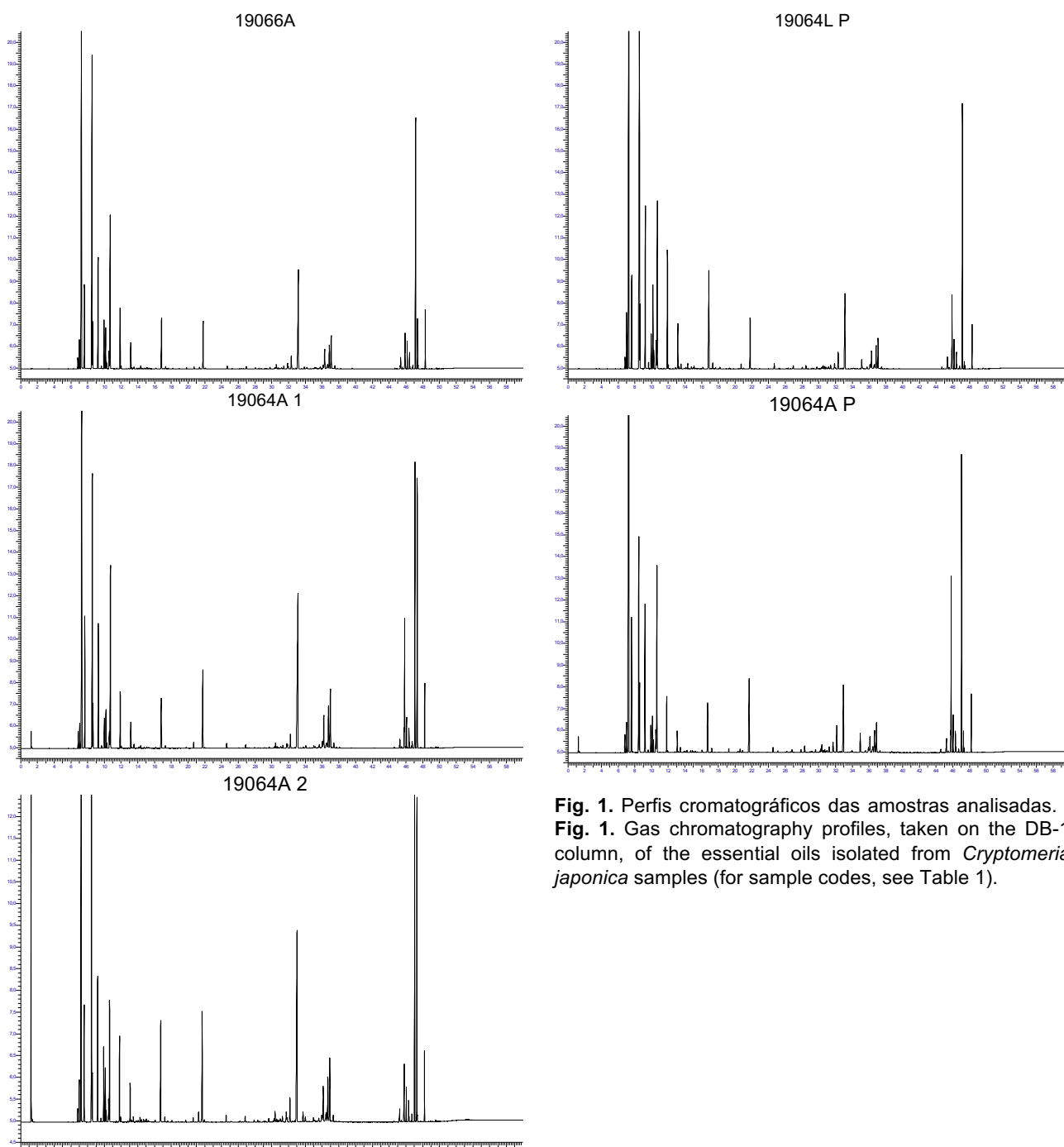
Faria *et al.* (2016) *J. Agric. Food Chem.* 64: 7452–7458

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

**Table 1.** Data on *Cryptomeria japonica* essential oils samples, isolated in June 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	R Yield	Código Code
							(h:min)	(%, v/p)	
Ramadas e bicadas com estróbilos ♀	Lote não estilhado	Branches from landscaping with ♀ strobili	Non-woodchips	Achadinha, Nordeste, S. Miguel, Açores	Jun-19	SD	2:05	0.26	19066A
Ramadas e bicadas com estróbilos ♀	Lote não estilhado	Branches from landscaping with ♀ strobili	Non-woodchips	Cumeeiras, Sete Cidades, S. Miguel, Açores	Jun-19	SD	2:01	0.26	19064A 1
Ramadas e bicadas com estróbilos ♀	Lote não estilhado	Branches from landscaping with ♀ strobili	Non-woodchips	Caldeira Velha, Ribeira Grande, S. Miguel, Açores	Jun-19	SD	2:00	0.27	19064A 2
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Prainha, São Roque do Pico, Pico, Açores	Jun-19	SD	2:00	0.19	19064L P
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Prainha, São Roque do Pico, Pico. Açores	Jun-19	SD	2:00	0.18	19064A 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.



**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 junho de 2019 (para códigos das amostras vide Tabela 1).

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

Componentes	Components	IR / RI	1906 6A	1906 4A_1	1906 4A_2	1906 4L_P	1906 4A_P
Triciclono	Tricyclene	921	0.4	0.4	0.3	0.3	0.5
$\alpha$ -Tujeno	$\alpha$ -Thujene	924	0.9	0.7	1.0	1.6	0.9
$\alpha$ -Pineno	$\alpha$ -Pinene	930	22.3	17.1	18.2	24.1	30.4
Canfeno	Camphene	938	2.8	3.4	3.0	2.3	3.5
Sabineno	Sabinene	958	13.2	9.6	14.3	18.8	6.7
$\beta$ -Pineno	$\beta$ -Pinene	963	1.5	1.0	1.3	1.3	1.6
$\beta$ -Mirceno	$\beta$ -Myrcene	975	3.9	3.8	3.9	4.6	4.3
$\alpha$ -Felandreno	$\alpha$ -Phellandrene	995	0.1	t	0.1	0.2	0.1
$\delta$ -3-Careno	$\delta$ -3-Carene	1000	1.7	0.9	2.0	0.9	0.8
$\alpha$ -Terpineno	$\alpha$ -Terpinene	1002	1.4	1.1	1.5	2.3	1.0
<i>p</i> -Cimeno	<i>p</i> -Cymene	1003	0.2	0.2	0.3	0.5	t
$\beta$ -Felandreno	$\beta$ -Phellandrene	1005	0.6	0.5	0.6	0.8	0.7
Limoneno	Limonene	1009	6.4	6.9	3.3	5.5	6.6
<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimeno	<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimene	1017	t	t	t	t	t
<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimeno	<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimene	1027	t	t	t	t	t
$\gamma$ -Terpineno	$\gamma$ -Terpinene	1035	2.3	1.9	2.4	3.7	1.6
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1037	0.1	t	0.1	0.1	t
2,5-Dimetil estireno	2,5-Dimethyl styrene	1059	t	t	t	t	t
Terpinoleno	Terpinolene	1064	1.0	0.9	1.1	1.4	0.7
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1066	t	t	t	t	t
Linalol	Linalool	1074	t	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>trans</i> -Tujona	<i>trans</i> -Thujone	1081	t	t	t	0.1	0.1
Acetato de 1-octen-3-ilo	1-Octen-3-yl acetate	1086	t	t	t	0.1	0.1
$\alpha$ -Canfolenal	$\alpha$ -Campholenal	1092	t	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	t	t	0.2	t	t
Cânfora	Camphor	1102	t	t	t	t	t
<i>cis</i> - <i>p</i> -2-Menten-1-ol	<i>cis</i> - <i>p</i> -2-Menthen-1-ol	1114	0.1	t	t	0.1	t
<i>trans</i> -Pinocanfona (= <i>trans</i> -3-Pinanona)	<i>trans</i> -Pinocamphone (= <i>trans</i> -3-Pinanone)	1121	t	t	t	t	t
Borneol	Borneol	1134	t	t	t	0.1	0.1
<i>cis</i> -Pinocanfona	<i>cis</i> -Pinocamphone	1134	t	t	t	t	t
Terpinen-4-ol	Terpinen-4-ol	1148	2.5	2.1	3.4	4.3	1.9
Salicilato de metilo	Methyl salicylate	1159	t	t	t	t	t
$\alpha$ -Terpineol	$\alpha$ -Terpineol	1159	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
<i>cis</i> -Piperitol	<i>cis</i> -Piperitol	1182	t	t	t	t	t
<i>trans</i> -Piperitol	<i>trans</i> -Piperitol	1189	t	t	t	t	t
Acetato de $\alpha$ -fenchilo	$\alpha$ -Fenchyl acetate	1200	t	t	t	t	t
Piperitona	Piperitone	1211	t	t	t	t	t
Geraniol	Geraniol	1236	0.1	0.2	t	t	t
Acetato de linalilo	Linalyl acetate	1245	t	t	t	0.2	0.2
<i>trans</i> -Anetole	<i>trans</i> -Anethole	1254	t	t	0.3	t	t
Acetato de bornilo	Bornyl acetate	1265	2.3	3.6	3.5	1.9	3.1
Acetato de <i>cis</i> -verbenilo	<i>cis</i> -Verbenyl acetate	1266	t	t	t	t	t
Acetato de $\alpha$ -terpenilo	$\alpha$ -Terpenyl acetate	1334	0.2	0.2	0.2	t	0.4
$\alpha$ -Cubebeno	$\alpha$ -Cubebene	1345	t	t	t	t	t
Acetato de geraniol	Geranyl acetate	1370	t	t	t	t	t
$\alpha$ -Copaeno	$\alpha$ -Copaene	1375	t	t	t	t	t
$\beta$ -Bourboneno	$\beta$ -Bourbonene	1379	t	t	0.2	t	t
$\beta$ -Elemeno	$\beta$ -Elemene	1388	0.2	t	t	0.2	0.3
$\beta$ -Cariofileno	$\beta$ -Caryophyllene	1414	t	t	t	t	t
$\beta$ -Copaeno	$\beta$ -Copaene	1426	t	t	t	0.1	t
$\alpha$ -Humuleno	$\alpha$ -Humulene	1447	t	t	t	t	t
<i>trans</i> - $\beta$ -Farneseno	<i>trans</i> - $\beta$ -Farnesene	1455	0.1	t	0.2	t	t
$\gamma$ -Muuroloeno	$\gamma$ -Muurolene	1469	t	0.3	t	0.1	0.2
Germacreno D	Germacrene D	1474	0.3	0.1	0.4	0.1	0.4
Biciclogermacreno	Bicyclogermacrene	1487	t	t	t	t	t
$\alpha$ -Muuroloeno	$\alpha$ -Muurolene	1494	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
$\beta$ -Bisaboleno	$\beta$ -Bisabolene	1500	0.4	0.2	0.4	t	0.3
$\gamma$ -Cadineno	$\gamma$ -Cadinene	1500	0.1	0.2	0.2	0.3	0.5
<i>trans</i> -Calameneno	<i>trans</i> -Calamenene	1505	t	t	t	t	t
$\delta$ -Cadineno	$\delta$ -Cadinene	1505	0.7	0.6	0.8	0.7	1.1
Elemol	Elemol	1530	7.7	10.8	8.7	3.7	3.6
<i>trans</i> -Nerolidol	<i>trans</i> -Nerolidol	1549	0.1	0.1	0.3	t	t
Germacreno D-4-ol *	Germacrene D-4-ol *	1557	0.1	t	t	t	t
Óxido de $\beta$ -cariofileno	$\beta$ -Caryophyllene oxide	1561	t	t	0.2	t	t
Cedrol	Cedrol	1574	t	0.2	t	t	0.1
Anidrooplopanona	Anhydrooplopanone (= $\beta$ -Oplopanone)	1576	0.1	t	t	0.4	0.9

Componentes	Components	IR / RI	1906 6A	1906 4A_1	1906 4A_2	1906 4L_P	1906 4A_P
10- <i>epi</i> - $\gamma$ -Eudesmol	10- <i>epi</i> - $\gamma$ -Eudesmol	1593	0.2	0.1	0.2	0.1	t
$\gamma$ -Eudesmol	$\gamma$ -Eudesmol	1609	1.3	1.7	1.4	0.9	0.4
T-Cadinol	T-Cadinol	1616	0.2	0.2	0.3	0.2	0.4
T-Muuroiol	T-Muuroiol	1616	0.2	0.2	0.2	0.1	0.3
$\alpha$ -Muuroiol (= $\delta$ -Cadinol)	$\alpha$ -Muuroiol (= $\delta$ -Cadinol)	1618	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2
$\beta$ -Eudesmol	$\beta$ -Eudesmol	1620	1.6	2.1	1.7	1.1	1.2
$\alpha$ -Cadinol	$\alpha$ -Cadinol	1626	t	t	t	t	t
$\alpha$ -Eudesmol	$\alpha$ -Eudesmol	1634	2.0	2.6	2.3	1.4	1.6
Criptomeriona *	Cryptomerione *	1686	t	t	t	t	t
Acetato de oplopanoilo *	Oplopanoyl acetate *	1808	t	t	t	t	0.1
Rimueno	Rimueno	1814	t	t	t	t	t
Isopimara-9(11),15-dieno	Isopimara-9(11),15-diene	1821	0.6	0.3	0.4	0.4	0.6
NI 1	UI 1	1915	1.1	2.1	1.0	1.7	4.0
NI A'	UI A'	1915	t	t	t	t	t
NI 2 (Isokaurene *)	UI 2 (Isokaurene *)	1915	0.9	2.0	0.6	1.4	2.0
NI 3	UI 3	1924	1.0	0.8	0.7	0.7	1.1
Sandaracopimara-8(14),15-dieno	Sandaracopimara-8(14),15-diene	1956	0.7	0.7	0.5	0.4	0.9
Isofilocladeno *	Isophyllocladene *	1956	t	0.1	t	0.3	t
3' Cryptomeria	3' Cryptomeria	1977	0.1	0.1	0.1	t	0.1
Filocladeno*	Phyllocladene	2006	11.7	8.8	8.3	8.5	10.7
Caureno	Kaurene	2044	1.7	8.1	6.7	0.2	0.7
Abietadieno	Abietadiene	2060	t	t	t	t	t
NI 4	UI 4 (Nezukol *)	2176	1.9	1.3	1.2	1.0	1.5
Phyllocladanol *	Phyllocladanol *	2200	t	t	t	t	t
<b>% Identificação</b>	<b>% identification</b>		95.2	94.5	95.6	96.2	92.3
<b>Componentes agrupados</b>	<b>Grouped components</b>						
Hidrocarbonetos monoterpénicos	Monoterpene hydrocarbons		58.7	48.4	53.3	68.3	59.4
Monoterpenos oxigenados	Oxygen-containing monoterpenes		5.4	6.4	7.8	7.2	6.2
Hidrocarbonetos sesquiterpénicos	Sesquiterpene hydrocarbons		1.9	1.6	2.2	1.7	2.9
Sesquiterpenos oxigenados	Oxygen-containing sesquiterpenes		13.6	18.2	15.5	8.0	8.8
Hidrocarbonetos diterpénicos	Diterpene hydrocarbons		15.6	19.9	16.5	10.9	14.9
Diterpenos oxigenados	Oxygen-containing diterpenes		t	t	t	t	t
Fenilpropanóides	Phenylpropanoids		t	t	0.3	t	t
Outros	Others		t	t	t	0.1	0.1

IR – Índices de retenção calculados relativamente a uma série de *n*-alcanos C<sub>9</sub>-C<sub>22</sub> numa coluna DB-1, \* Identificação baseada apenas no espetro de massa, NI – Compostos não identificados, t – em Português, v: vestigial (<0.05%).

RI - Retention index calculated relative to C<sub>9</sub>-C<sub>22</sub> *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 $^{13}\text{C}$ ( $^{13}\text{C}$ 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  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$  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**); Cumeeiras, Sete Cidades, São Miguel, (**4A1**); Caldeira Velha, Ribeira Grande, São Miguel, (**4A2**); Prainha, São Roque, Pico (**4AP**); Prainha, São Roque, Pico, (**4LP**); Açores, Portugal.

**Tipo de mata:** Cultivo

**Ano / mês de recolha:** 2019 / 06

**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:** 5 Óleos essenciais (OE); **6A**; **4A1** e **4A2** (São Miguel); **4AP** e **4LP** (Pico)

**Tabela 1.** Amostras de OEs de *C. japonica* referentes a junho 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)
19066A	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:05	0,26
19064A1	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:01	0,26
19064A2	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:00	0,27
19064AP*	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:00	0,18
19064LP*	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:00	0,19

\*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  $^{13}\text{C}$  RMN das 5 amostras de OEs de *C. japonica*, representativas do mês de junho de 2019 fornecidos pela Azorina S.A. (Tabela 1). Assim, seguindo o mesmo procedimento das amostras analisadas dos meses anteriores procedeu-se à análise comparativa da constituição química dos três OEs da Ilha de São Miguel, **6A**, **4A1** e **4A2** e dois OEs da Ilha Pico **4AP** e **4LP**.

Relativamente aos OEs da ilha de São Miguel, o perfil químico de  $^{13}\text{C}$  RMN do OE de junho (**19066A**) comparativamente ao OE do mês anterior (**19056A**) da mesma cota e da mesma região, as percentagens dos constituintes maioritários variaram. No OE **19066A** aumentou o  $\alpha$ -pineno, elemol, limoneno, canfeno e acetato de bornilo e diminuiu o sabineno, filocladeno e *ent*-caureno (Anexo, Figura 1).

O perfil químico de  $^{13}\text{C}$  RMN do OE de junho, 19064A1 (Cumeeiras, Sete Cidades), da mesma cota e da

mesma região, é semelhante ao do OE do mês anterior (1905**4A**), observando-se no primeiro uma diminuição significativa de  $\alpha$ -pineno e ligeira de sabineno, com aumento de elemol, limoneno e acetato de bornilo. Observa-se ainda uma redução considerável de filocladeno, com aumento significativo de *ent*-caureno (Anexo, Figura 2).

No que respeita ao perfil químico dos OEs de junho de locais distintos, 1906**4A2** (Caldeira Velha, Ribeira Grande) e 1906**4A1** (Cumeeiras, Sete Cidades), são muito semelhantes, observando-se na amostra **A2** um aumento de  $\alpha$ -pineno e sabineno e diminuição de limoneno e elemol. As quantidades de filocladeno e *ent*-caureno mantêm-se muito próximas não se observando grande variação entre estes dois diterpenos (Anexo, Figura 3).

Procedeu-se à análise dos OEs do mês de junho da ilha do Pico que foram extraídos por arrastamento de vapor num destilador na própria ilha. No OE (1906**4AP**) deteta-se uma diminuição de limoneno, terpinen-4-ol, mirceno,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -terpineno com redução significativa de sabineno, relativamente ao OE do mês anterior (1905**4AP**). No OE do mês de junho observa-se ainda um aumento de  $\alpha$ -pineno e filocladeno com vestígios de *ent*-caureno (Anexo, Figura 4). No OE (1906**4LP**) da mesma cota, local e de litossolos relativamente ao mês anterior (1905**4LP**), mantém-se elevada a quantidade de sabineno com aumento de  $\alpha$ -pineno e filocladeno e redução a metade de limoneno (Anexo, Figura 5).

O perfil químico de  $^{13}\text{C}$  RMN destes OEs da mesma cota, mas de solos diferentes, andossolos (**4AP**) e litossolos (**4LP**), apresentam a mesma constituição química, mas as percentagens dos seus constituintes variam. O OE de andossolos, (1906**4AP**), comparativamente com o OE de litossolos (1906**4LP**), apresenta uma quantidade  $\alpha$ -pineno muito superior à de sabineno, sendo este último também inferior ao filocladeno, com vestígios de *ent*-caureno (Anexo, Figura 6).

Page 7 of 14

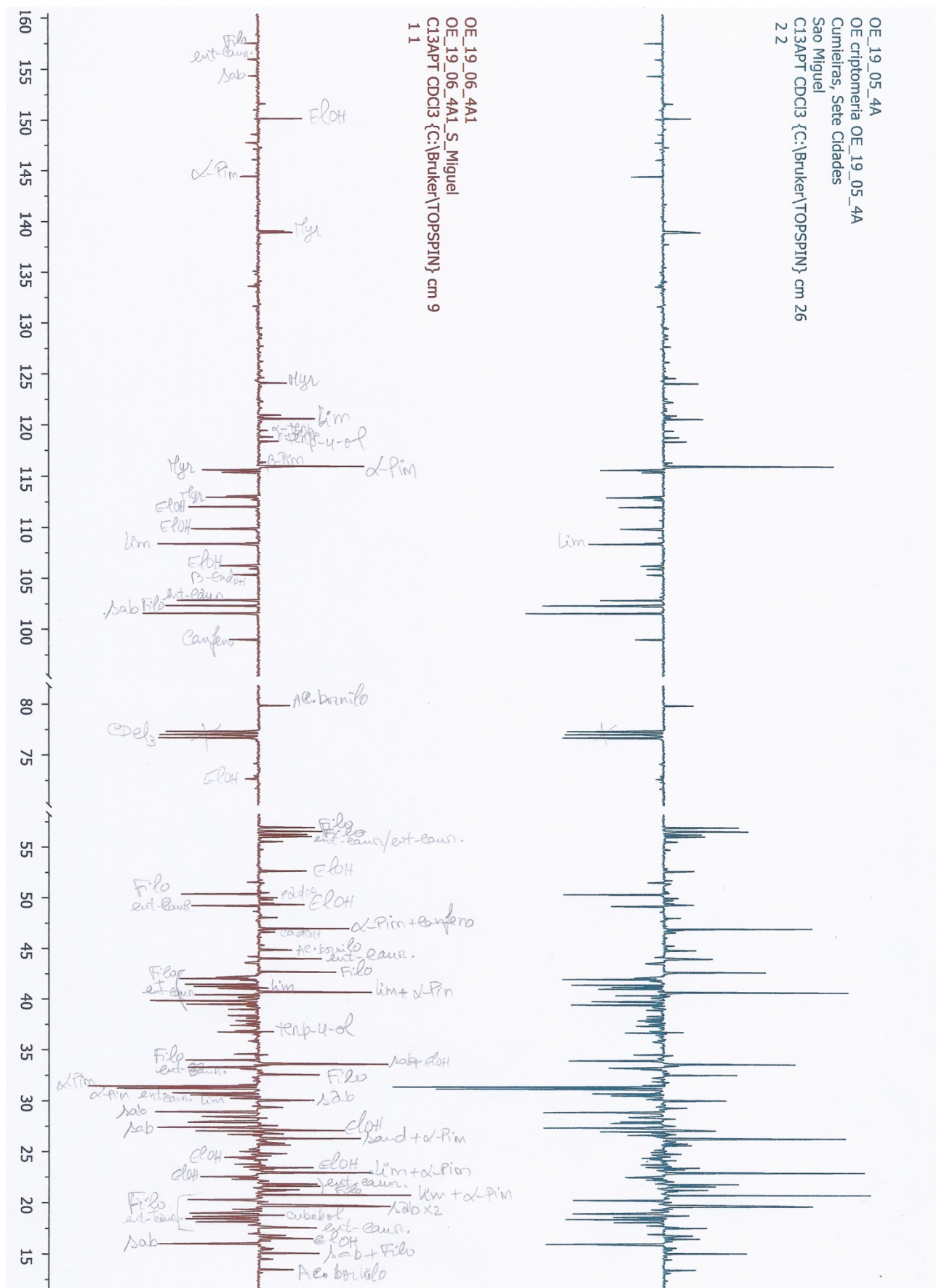


Figura 2- Comparação dos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) dos OEs de 19064A e 19054A da ilha de São Miguel, em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  **$\alpha$ -Pin** –  $\alpha$ -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno;  **$\alpha$ -** e  **$\gamma$ -Terp** –  $\alpha$ - e  $\gamma$ -Terpineno; **Tern-4-ol** – Terpinen-4-ol; **EIOH** – Elemol; **Filo** – Filocladeno; **ent-Caur** – *ent*-Caureno; **Sand** – Sandaracopamaradieno; **Ac. bornilo** – Acetato de bornilo; canfeno.

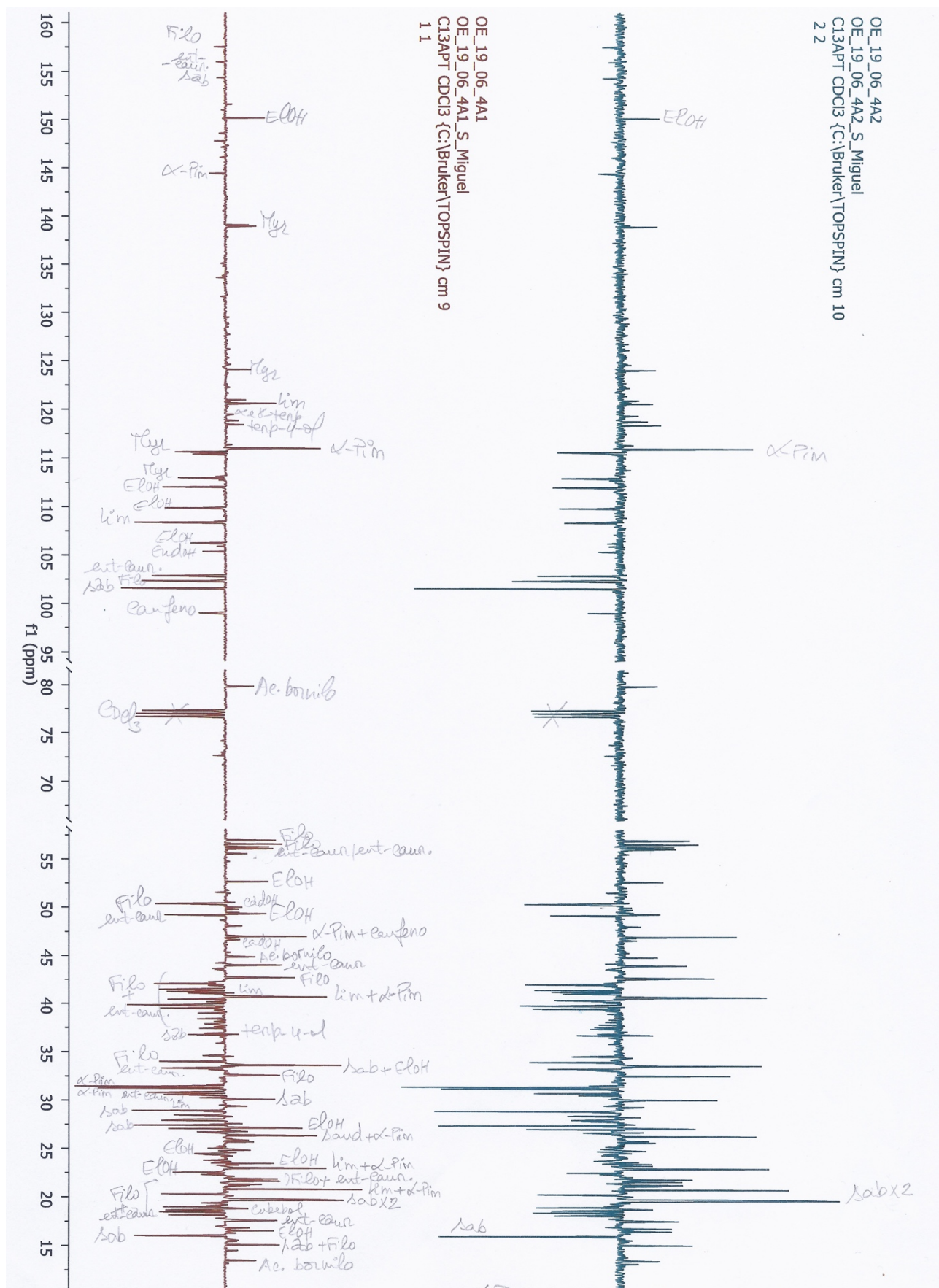


Figura 3- Espectro comparativo dos  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) dos OEs de **19064A1** e **19064A2** da ilha de São Miguel, em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos: **α-Pin** – α-Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno; **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.





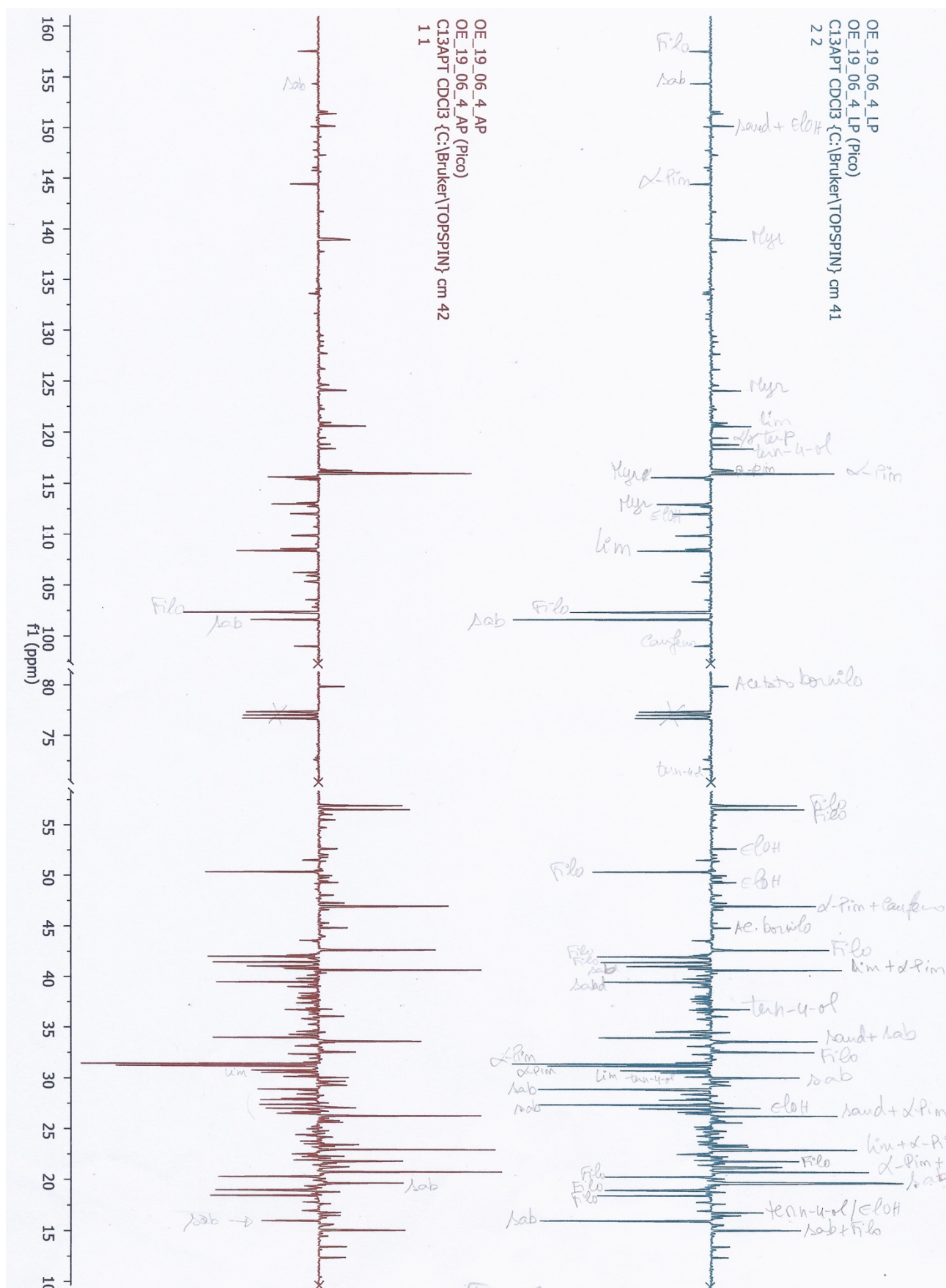


Figura 6- Espectro comparativo dos  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) dos OEs de **19064AP** e **19064LP** da ilha do Pico em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  **$\alpha$ -Pin** –  $\alpha$ -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno;  **$\alpha$ - e  $\gamma$ -Terp** –  $\alpha$ - e  $\gamma$ -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 $^{13}\text{C}$ Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^{13}\text{C}$ 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  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^{13}\text{C}$  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**); Cumeeiras, Sete Cidades, São Miguel, (**4A1**); Caldeira Velha, Ribeira Grande, São Miguel, (**4A2**); Prainha, São Roque, Pico (**4AP**); Prainha, São Roque, Pico, (**4LP**); Azores, Portugal.

**Type of forest:** Cultivar

**Production Year / production month:** 2019 / 06

**Quota:** 4 and 6

**Type of soils:** Andosol (A); Lithosol (L)

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

**Extraction procedure:** Steam-distillation

**Sample:** 5 Essential Oils (EOs); **6A**, **4A1**, **4A2** (São Miguel Island); **4LP** and **4AP** (Pico Island)

**Table 1.** Samples of *C. japonica* EOs collected in June 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)
19066 <sup>A</sup>	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:05	0.26
19064A1	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:02	0.26
19064A2	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:00	0.27
19064AP*	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:00	0.18
19064LP*	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:00	0.19

\*Steam-distillation at Pico Island

Five samples of *C. japonica* EOs, representative of June 2019 provided by Azorina S.A. (Table 1), were analyzed by the  $^{13}\text{C}$  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 three EOs, **6A**, **4A1**, **4A2** from São Miguel Island, and two OEs **4AP** and **4LP** from Pico Island, was progressed.

In relation to  $^{13}\text{C}$  NMR chemical profiles of EOs from São Miguel Island, EO **19066A** and EO **19056A** are similar with variations in their major constituents. In the OE **19066A**,  $\alpha$ -pinene, elemol, limonene, camphene and bornyl acetate increase while sabinene, phyllocladene and *ent*-kaurene decrease (Annex, Figure 1).

$^{13}\text{C}$  NMR chemical profiles of EOs from Cumeeiras, Sete Cidades, 1906**4A1** and 1905**4A** are analogous. In the June EO 1906**4A1** a considerable reduction of  $\alpha$ -pinene and phyllocladene and slightly decrease of

sabinene with simultaneously increase of elemol, limonene and bornyl acetate were detected, being the increase of the *ent*-kaurene substantial (Annex, Figure 2).

The chemical profile of June EOs from São Miguel distinct regions, 1906**4A2** (Caldeira Velha, Ribeira Grande) and 1906**4A1** (Cumeeiras, Sete Cidades) are similar. An increase of  $\alpha$ -pinene and sabinene with decrease of limonene and elemol were detected in the first EO (1906**4A2**) while amounts of phyllocladene and *ent*-kaurene are close and there is no large variation between them (Annex, Figure 3).

The analysis of  $^{13}\text{C}$  NMR chemical profiles of June EOs, from different soils of Pico Island obtained by steam-distillation at same island, were performed. In the EO 1906**4AP**, the sabinene have a substantial decrease while a reduced of limonene, terpinen-4-ol, myrcene,  $\alpha$ - and  $\gamma$ -terpinene were observed when compared with EO 1905**4AP**. In June EO, an increase of  $\alpha$ -pinene and phyllocladene were also detected with *ent*-kaurene vestigial (Figure 4). OEs from lithosols (1906**4LP** and 1905**4LP**) of same region and quote contain abundant quantities of sabinene, with  $\alpha$ -pinene and phyllocladene increase and *ca.* the half of the limonene quantity were detected in June EO 1906**4LP** (Figure 5).

$^{13}\text{C}$  NMR chemical profiles of EOs of the same quote and local but different soils, andosols (4AP) and lithosols (4LP) have the same chemical constitution with variation of their components. The EO **19064AP** contains a higher quantity of  $\alpha$ -pinene than sabinene, with the last one lower than phyllocladene and *ent*-kaurene vestigial (Figure 6).

Figures 1, 2, 3, 4, 5 and 6 were illustrated in pages 7 to 12.

**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