

## Relatório no âmbito do projeto

## Report on project

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

Agosto, 2018

August, 2018



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

<b>Produtor / Producer</b>	Azorina S. A.
<b>Responsável para contacto / Contact Name</b>	António J. R. M. Almeida / Maria C. S. M. Rodrigues
<b>Endereço / Address</b>	Av. Antero de Quental 9 C 2ºAndar, 9500-160 Ponta Delgada, Açores, Portugal
<b>Telefone / Phone</b>	296240602
<b>Email</b>	<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**

<b>Nome científico / Scientific name:</b>	<i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L.f.) D.Don
<b>Nome vulgar / Common name:</b>	Criptoméria, Cedro-japonês / Japanese red-cedar
<b>Família / Family:</b>	Cupressaceae
<b>Parte da planta / Plant part</b>	<i>vide</i> página seguinte / <i>vide</i> overleaf
<b>Floral ou Vegetativo / Floral or Vegetative</b>	
<b>Mês, ano de colheita / Harvest month, year</b>	Julho de 2018 / July 2018
<b>Exemplar de herbário / Voucher code</b>	
<b>Código de colheita / Harvest code</b>	

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

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

**Identificação da amostra / Sample identification**

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

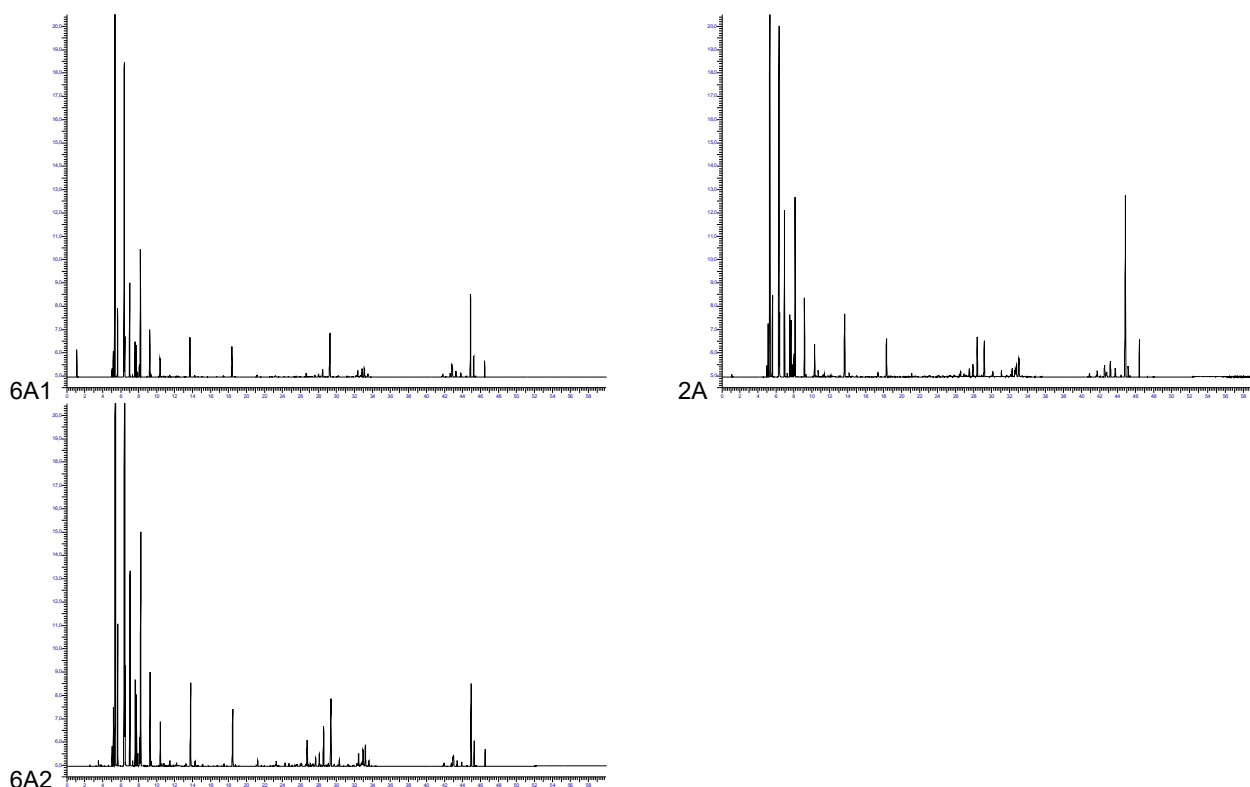
Faria *et al.* (2016) *J. Agric. Food Chem.* 64: 7452–7458

**Tabela 1.** Dados das amostras de óleo essencial de *Cryptomeria japonica* isoladas em Julho de 2018.

**Table 1.** Data on *Cryptomeria japonica* essential oils samples, isolated in July 2018.

<i>Cryptomeria japonica</i> (L. fil.) D. Don					Óleo Essencial / Essential Oil		
Tipo de material	Sample type		Origem / Provenance		TD DT (h:min)	R Yield (%, v/p)	Código Code
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Achadinha, Nordeste, São Miguel, Açores	2:05	0.16	18076A1
Ramadas e bicadas	Lote estilhado (2h)	Branches from landscaping	Woodchips (2h)	Achadinha, Nordeste, São Miguel, Açores	2:05	0.28	18076A2
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Cora da Mata, Ribeirinha, Ribera Grande, São Miguel, Açores	2:05	0.23	18072A

TD: Tempo de destilação. DT: Distillation time. R: Rendimento.



**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 Julho de 2018 (para códigos das amostras *vide* Tabela 1).

**Table 2.** Percentage composition of the essential oils isolated from *Cryptomeria japonica* samples in July 2018 (for sample codes, *vide* Table 1).

Componentes	Components	IR / RI	18076A1	18076A2	18072A
Triciclono	Tricyclene	921	0.2	0.4	0.5
$\alpha$ -Tujeno	$\alpha$ -Thujene	924	1.2	1.4	1.2
$\alpha$ -Pineno	$\alpha$ -Pinene	930	24.9	29.1	29.9
Canfeno	Camphene	938	3.0	2.6	2.5
Sabineno	Sabinene	958	19.6	20.4	16.4
$\beta$ -Pineno	$\beta$ -Pinene	963	2.0	2.0	1.6
$\beta$ -Mirceno	$\beta$ -Myrcene	975	4.7	5.0	5.7
$\alpha$ -Felandreno	$\alpha$ -Phellandrene	995	0.1	0.1	t
$\delta$ -3-Careno	$\delta$ -3-Carene	1000	1.8	2.0	2.0
$\alpha$ -Terpineno	$\alpha$ -Terpinene	1002	1.6	1.5	1.9
<i>p</i> -Cimeno	<i>p</i> -Cymene	1003	0.2	0.3	0.4
$\beta$ -Felandreno	$\beta$ -Phellandrene	1005	0.7	0.7	0.8
Limoneno	Limonene	1009	7.4	7.3	7.3
<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimeno	<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimene	1017	t	t	t
<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimeno	<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimene	1027	t	t	t
$\gamma$ -Terpineno	$\gamma$ -Terpinene	1035	2.5	2.4	3.0
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1037	0.1	0.1	t
2,5-Dimetil estireno	2,5-Dimethyl styrene	1059	t	t	t
Terpinoleno	Terpinolene	1064	1.1	1.1	1.2
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1066	t	0.1	t
Linalol	Linalool	1074	t	0.1	0.3
Acetato de 1-octen-3-ilo	1-Octen-3-yl acetate	1086	t	t	t
<i>trans</i> - <i>p</i> -2-Menten-1-ol	<i>trans</i> - <i>p</i> -2-Menthen-1-ol	1099	0.1	0.2	0.2
Cânfora	Camphor	1102	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
Borneol	Borneol	1134	t	t	t
Terpinen-4-ol	Terpinen-4-ol	1148	2.8	3.3	3.1
$\alpha$ -Terpineol	$\alpha$ -Terpineol	1159	0.1	0.2	0.2
Acetato de $\alpha$ -fenchilo	$\alpha$ -Fenchyl acetate	1200	t	t	t
Acetato de linalilo	Linalyl acetate	1245	t	0.1	0.2
Acetato de bornilo	Bornyl acetate	1265	2.2	1.9	1.7
Acetato de $\alpha$ -terpenilo	$\alpha$ -Terpenyl acetate	1334	0.2	0.2	0.2
$\alpha$ -Cubebeno	$\alpha$ -Cubebene	1345	t	0.1	t
$\alpha$ -Copaeno	$\alpha$ -Copaene	1375	t	t	t
$\beta$ -Bourboneno	$\beta$ -Bourbonene	1379	t	0.1	t
$\beta$ -Elemeno	$\beta$ -Elemene	1388	t	0.1	t
$\beta$ -Cariofileno	$\beta$ -Caryophyllene	1414	t	t	t
$\beta$ -Copaeno	$\beta$ -Copaene	1426	t	0.1	t
$\alpha$ -Humuleno	$\alpha$ -Humulene	1447	t	t	t
NI B	NI B	1467	t	t	t
$\gamma$ -Muuroleno	$\gamma$ -Muurolene	1469	t	t	t
Germacreno D	Germacrene D	1474	0.4	1.1	0.4
Biciclogermacreno	Bicyclogermacrene	1487	t	0.1	t
$\alpha$ -Muuroleno	$\alpha$ -Muurolene	1494	t	0.3	0.4
$\gamma$ -Cadineno	$\gamma$ -Cadinene	1500	0.2	0.3	0.5
<i>trans</i> -Calameneno	<i>trans</i> -Calamenene	1505	t	t	t
$\delta$ -Cadineno	$\delta$ -Cadinene	1505	0.7	1.5	1.7
Elemol	Elemol	1530	4.5	3.5	1.7
Germacreno D-4-ol *	Germacrene D-4-ol *	1557	0.1	0.2	0.3
Óxido de $\beta$ -cariofileno	$\beta$ -Caryophyllene oxide	1561	t	t	t
Anidrooplopanona	Anhydrooplopanone	1576	t	t	t
$\gamma$ -Eudesmol	$\gamma$ -Eudesmol	1609	0.6	0.4	0.4
T-Cadinol	T-Cadinol	1616	0.2	0.3	0.5
T-Muurolol	T-Muurolol	1616	t	t	t
$\beta$ -Eudesmol	$\beta$ -Eudesmol	1620	0.8	0.2	0.6
$\alpha$ -Eudesmol	$\alpha$ -Eudesmol	1634	0.6	1.0	1.2
Criptomeriona*	Cryptomerione*	1686	t	t	t

Componentes	Components	IR / RI	18076A1	18076A2	18072A
Rimueno	Rimueno	1814	0.3	0.1	0.2
Isopimara-9(11),15-dieno	Isopimara-9(11),15-diene	1821	0.2	t	0.1
NI 1	UI 1	1915	0.4	0.2	0.6
NI 2	UI 2	1915	2.3	0.7	0.3
NI 3	UI 3	1924	0.6	0.2	0.7
Sandaracopimara-8(14),15-dieno	Sandaracopimara-8(14),15-diene	1956	0.5	0.2	0.4
Filocladeno*	Phyllocladene	2006	7.1	2.8	7.8
Caureno	Kaurene	2044	1.5	0.8	0.3
Abietadieno	Abietadiene	2060	t	t	t
NI 4	UI 4	2176	1.0	0.4	0.9
<b>% Identificação</b>	<b>% identification</b>		94.2	95.8	96.8
<b>Componentes agrupados</b>	<b>Grouped components</b>				
Hidrocarbonetos monoterpénicos	Monoterpene hydrocarbons		71.0	76.3	74.4
Monoterpenos oxigenados	Oxygen-containing monoterpenes		5.5	6.3	5.9
Hidrocarbonetos sesquiterpénicos	Sesquiterpene hydrocarbons		1.3	3.7	3.0
Sesquiterpenos oxigenados	Oxygen-containing sesquiterpenes		6.8	5.6	4.7
Hidrocarbonetos diterpénicos	Diterpene hydrocarbons		9.6	3.9	8.8
Outros	Others		t	t	t

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 espectro 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.



## 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, Açores, Portugal (Mata ca. 50 anos) e Cora da Mata, Ribeirinha Grande, São Miguel, Açores, Portugal (Mata ca. 40 anos).

**Tipo de mata:** Cultivo

**Ano / mês de recolha:** 2018 / 07

**Cota:** 6 e 2

**Tipo de solo:** Andossolo (A)

**Parte da planta:** parte aérea – ramadas e bicadas

**Método de extração:** Destilação por arrastamento de vapor

**Amostra:** 3 óleos essenciais (OEs); **A1**; **A2** e **2A**

**Tabela 1.** Código das amostras recebidas em julho de 2018 e condições de extração dos OEs de *C. japonica*.

Código (ano; mês; cota; tipo de solo; número da amostra)	Processamento da planta	Tempo de destilação (h:min)	Rendimento (%, v/p)
18076A1	Amostra não estilhada	2:05	0,16
18076A2	Amostra estilhada	2:05	0,28
18072A	Amostra não estilhada	2:05	0,18

Em simultâneo com as análises de GC e GC-MS dos OEs procedeu-se à análise por  $^{13}\text{C}$  RMN das três amostras de OEs de *C. japonica*, representativas do mês de julho de 2018 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 três OEs, **A1**; **A2** e **2A**.

O perfil químico de  $^{13}\text{C}$  RMN dos OEs **18076A1** e **18076A2**, de ramas e bicadas do mesmo local e mesma cota, são semelhantes. Contudo, o OE **18076A2** obtido da planta estilhada apresenta uma constituição química mais pobre do que o OE **18076A1** da planta não estilhada (Anexo, Figura 1). Esta variação já tinha sido detetada nas amostras do mês de maio e junho de 2018.

Da análise comparativa dos espectros dos dois OEs de criptoméria do mês de julho (**18076A1** e **18076A2**) com amostras padrão, verifica-se que estas amostras contêm maioritariamente compostos do tipo hidrocarbonetos monoterpénicos,  **$\alpha$ -pineno** e **sabineno**, que constituem ca. de 50% (da percentagem total dos OEs). À semelhança dos OEs dos meses anteriores, também foram detetados em menores percentagens, limoneno, mirceno e  $\alpha$ -terpineno seguido de compostos oxigenados como terpinen-4-ol, elemol e diterpenos do tipo filocladeno, *ent*-caureno e sandaracopamaradieno, entre outros não identificados (Anexo, Figura 1).

O OE **18076A1**, da planta não estilhada, resultante do mês de julho relativamente ao OE do mês de junho

(18066**A1**) está mais enriquecido em praticamente todos os compostos inclusive na composição em diterpenos, filocladeno e *ent*-caureno, com um ligeiro aumento de limoneno (Anexo, Figura 2).

Conclusão, ramadas e bicadas de criptoméria não estilhadas, oriundas do mesmo local (Achadinha, Nordeste, São Miguel) e mesma cota (6), ao longo dos meses, de maio a julho e com o mesmo tempo de destilação, originaram OEs, (18056A4, 18066A1 e 18076A1), com perfis químicos de <sup>13</sup>C RMN semelhantes, tendo-se observado no óleo do mês de julho um aumento na percentagem de todos os seus constituintes com um ligeiro aumento de limoneno.

O OE 18076**A2** (ramadas e bicadas estilhadas) do mês de julho apresenta os mesmos constituintes que o OE do mês de junho (18066**A2**), mas com uma ligeira diminuição nas percentagens de  $\alpha$ -pineno, sabineno, mirceno e limoneno e também na composição em diterpenos, filocladeno e sandacopamaradieno (Anexo, Figura 3).

O OE 18072**A** do mês de julho resultante de amostras de ramadas e bicadas não estilhadas, da Cora da Mata, Ribeirinha Grande, São Miguel (mata ca. 40 anos e cota 2) apresenta variações na percentagem dos constituintes comparativamente com o mês anterior (OE 18062**A**). No OE do mês de julho (18072A) deteta-se uma diminuição de  $\alpha$ -pineno e aumento de limoneno,  $\gamma$ -terpineno, filocladeno, terpinen-4-ol, sandaracopamaradieno e ligeiro aumento de sabineno e *ent*-caureno (Anexo, Figura 4).

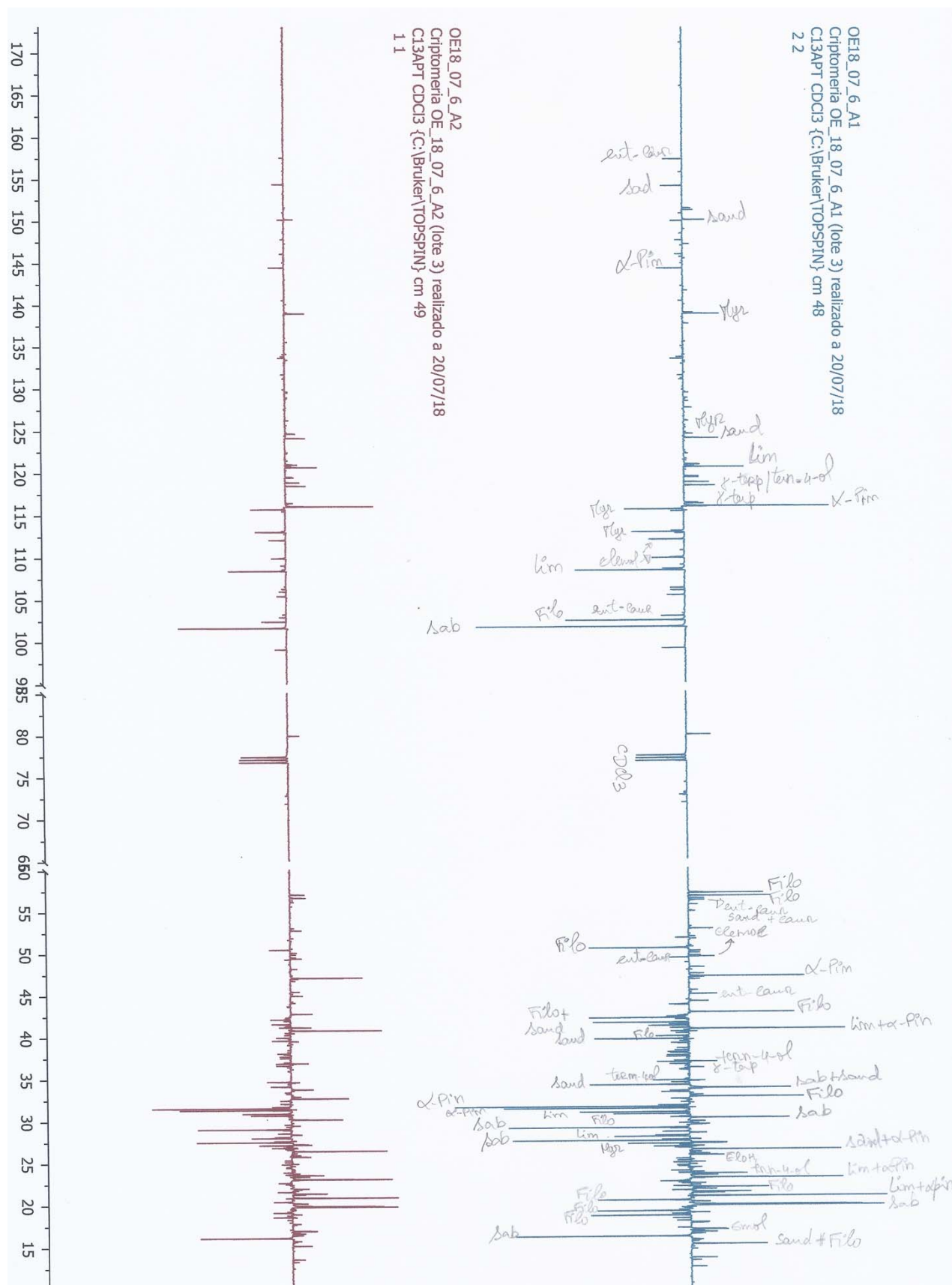


Figura 1. Comparação dos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) dos OEs de 18076A1 e 18076A2 em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  **$\alpha$ -Pin**-  $\alpha$ -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno;  **$\gamma$ -Ter** –  $\gamma$ -Terpineno; **Tern-4-ol**- Terpinen-4-ol; **Emol**- Elemol; **Filo**- Filocladeno; **ent-Caur**- ent-Caureno; **Sand**- Sandacopamaradieno.

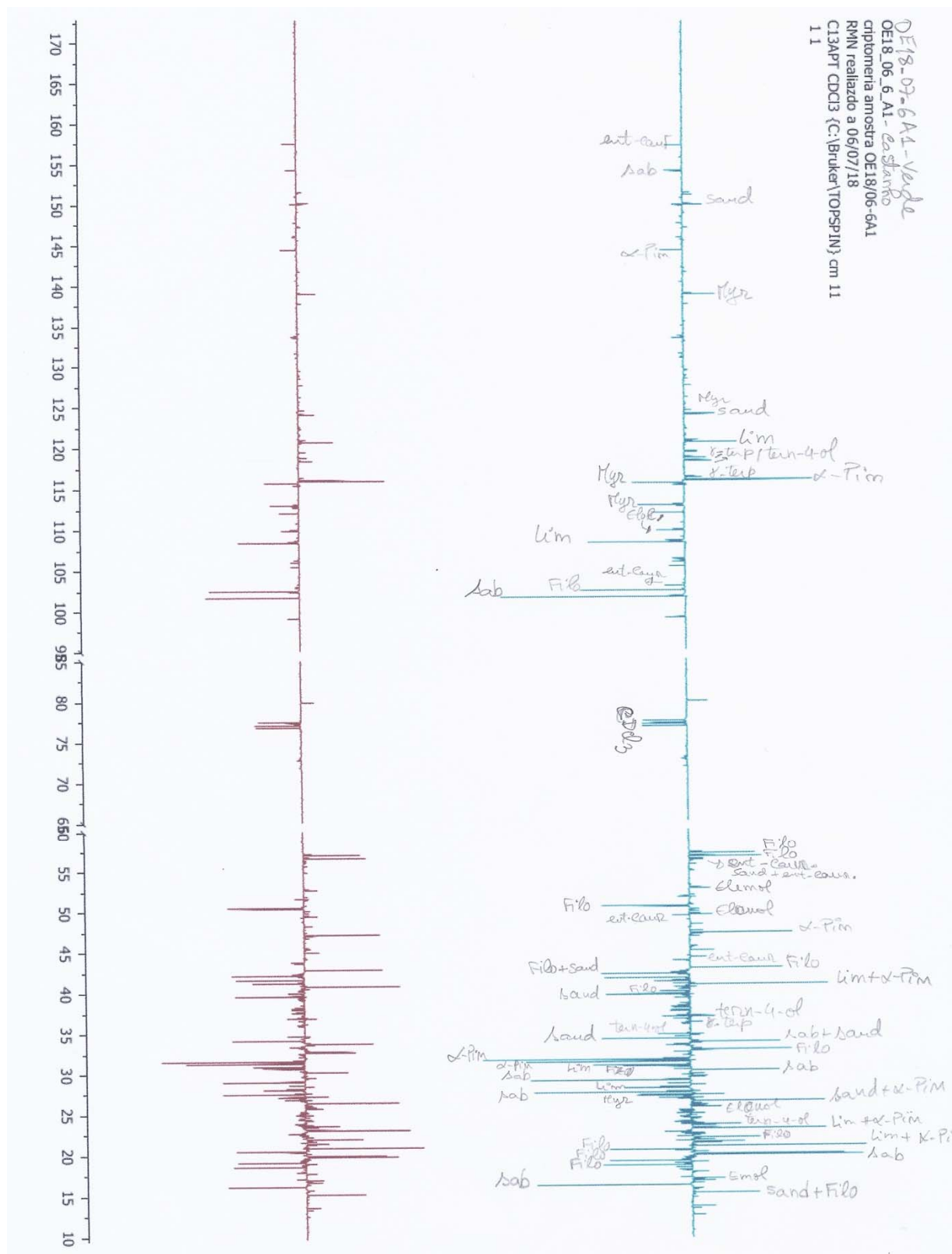


Figura 2- Comparação dos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) do OE de 18076A1 (verde) e 18066A (castanho) em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 –170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  **$\alpha$ -Pin-**  $\alpha$ -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno;  **$\gamma$ -Ter** –  $\gamma$ -Terpineno; **Tern-4-ol**- Terpinen-4-ol; **Emol**- Elemol; **Filo**- Filocladeno; **ent-Caur**- ent-Caureno; **Sand**- Sandacopamaradieno.

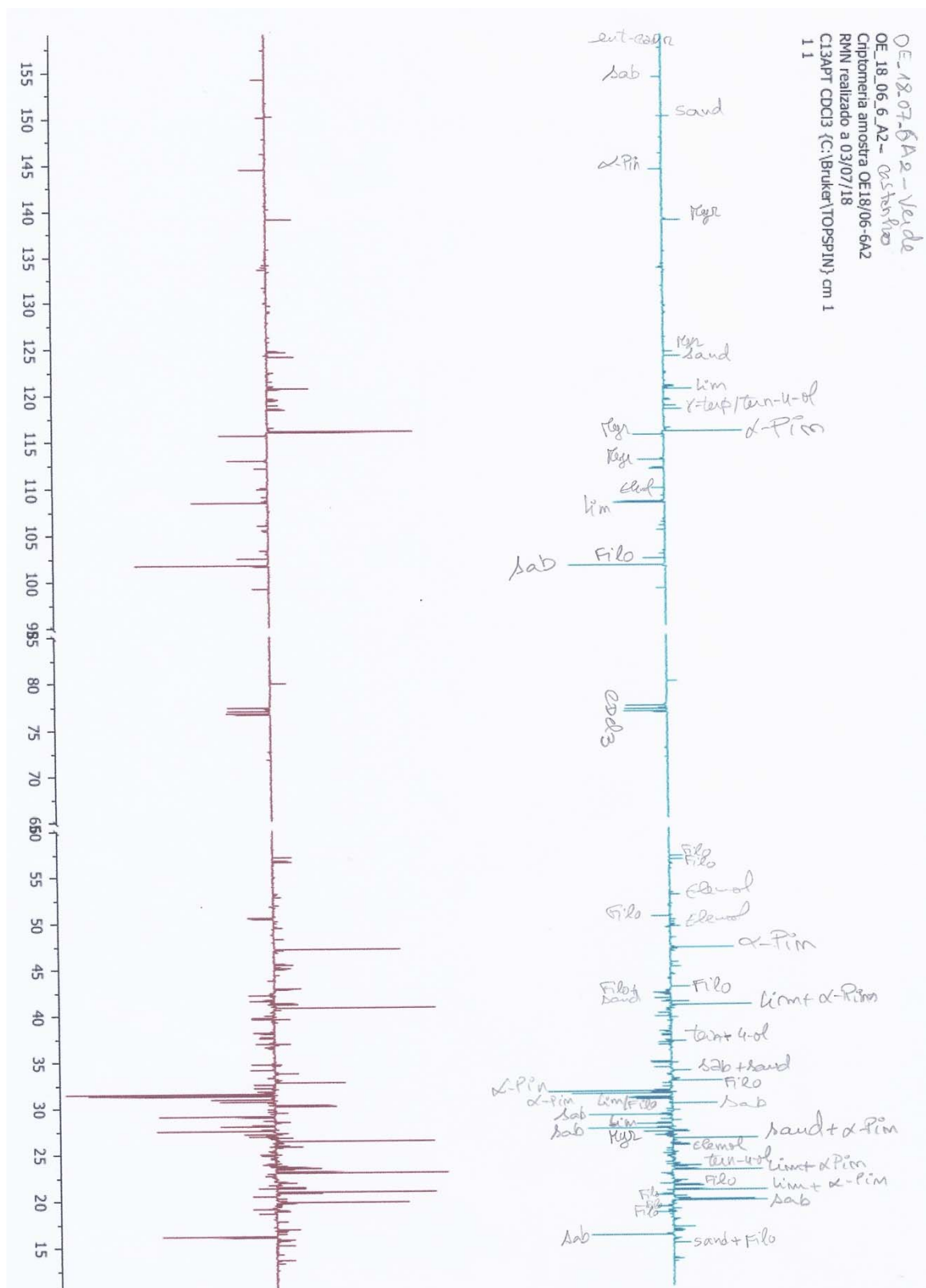


Figura 3- Comparação dos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) do OE de 18076A2 (verde) e 18066A2 (castanho) em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  70 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  **$\alpha$ -Pin-**  $\alpha$ -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno;  **$\gamma$ -Ter** –  $\gamma$ -Terpineno; **Tern-4-ol**- Terpinen-4-ol; **Emol**- Elemol; **Filo**- Filocladeno; **ent-Caur-** ent-Caureno; **Sand**- Sandacopamaradieno.

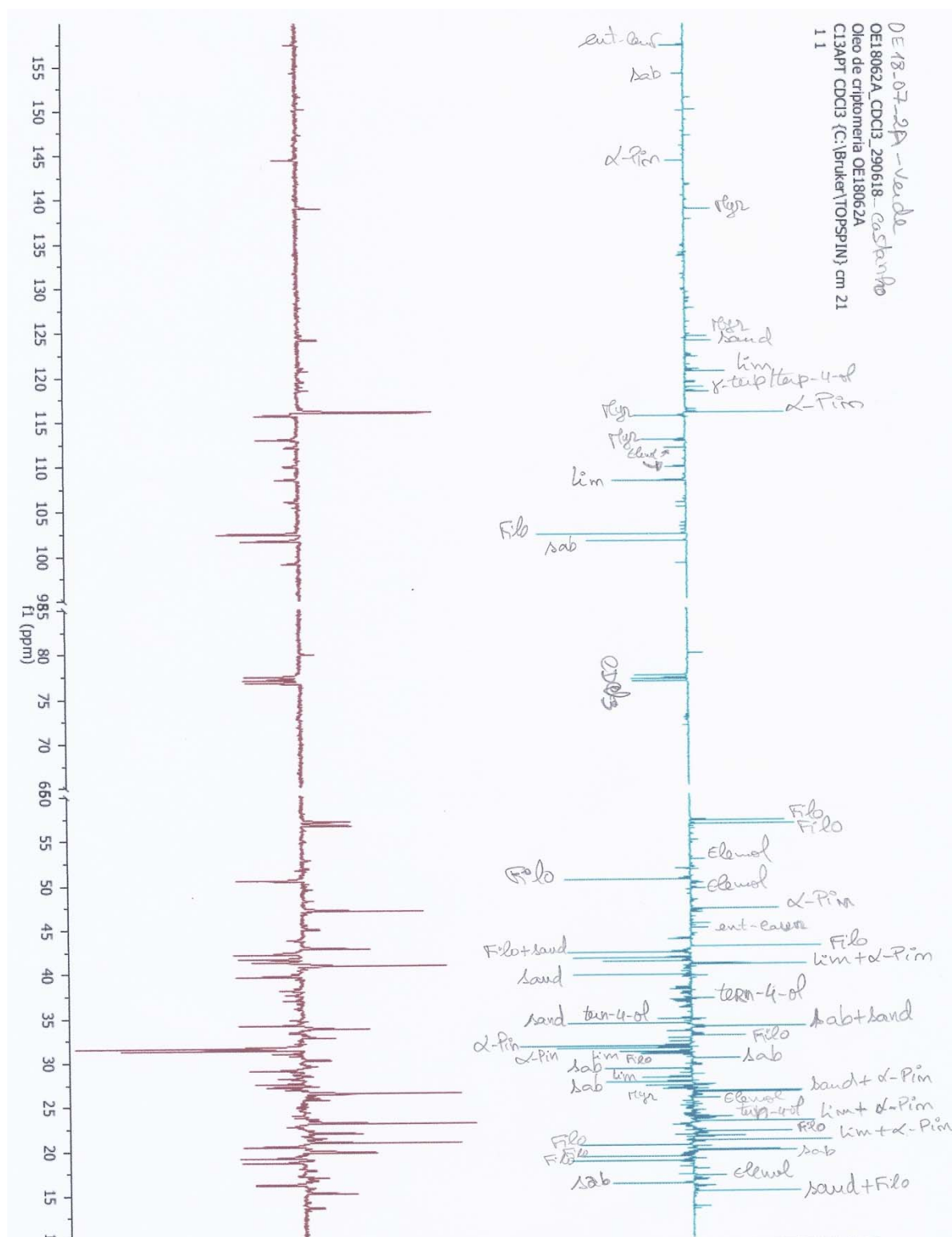


Figura 4- Comparação dos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) do OE de 18072A (verde) e 18062A (castanho) em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos: **α-Pin**-  $\alpha$ -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno; **γ-Ter** –  $\gamma$ -Terpineno; **Tern-4-ol**- Terpinen-4-ol; **Emol**- Elemol; **Filo**- Filocladeno; **ent-Caur**- ent-Caureno; **Sand**- Sandacopamaradieno.

**Agradecimentos:** ao projeto estratégico do CQB, ref<sup>a</sup> UID/MULTI/0062/2013, 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, Azores, Portugal (Woods ca. 50 years) and Cora da Mata, Ribeirinha Grande, São Miguel, Azores, Portugal (Woods ca. 40 years).

**Type of forest:** Cultivar

**Production Year / production month:** 2018 / 07

**Quota:** 6 (+500m) and 2

**Types of soils:** Andosols

**Part of plant:** Aerial parts – tree branches

**Extraction procedure:** Steam-distillation

**Sample:** 3 Essential Oils (EOs); **A1**; **A2** and **2A**

**Table 1.** Sample codes and extraction condition of *C. japonica* EOs collected in July 2018.

Code (Year; month; quota; soil type; sample number)	Plant processing	Distillation time (h:min)	Yield (%, v/w)
18076A1	Uncut branches	2:05	0.16
18076A2	Cut branches	2:05	0.28
18072A	Uncut branches	2:05	0.18

The three samples of *C. japonica* EOs, representative of July 2018 provided by Azorina S.A., were analyzed by the  $^{13}\text{C}$  NMR technique simultaneously with the GC and GC-MS analyzes. Thus, following the same procedure used for samples from other moths, a comparative analysis of the chemical constituents of three EOs (**A1**; **A2** and **2A**) was proceeded.

The  $^{13}\text{C}$  RMN chemical profiles of OEs 18076**A1** e 18076**A2**, (same quote and region) is similar being the chemical composition of EO 18066A2, from cut branches, poorer than EO 18066A1, from uncut branches (Annex, Figure 1), as previously verified with the samples from other moths.

The comparative analysis of two spectra of *Cryptomeria* EOs from July (18076**A1** and 18076**A2**) with the spectra of the pure oil components, is characterized by high contents of monoterpene hydrocarbons, such as  $\alpha$ -pinene and sabinene, which corresponding to ca. 50% of the total oil percentage. Other volatile compounds as myrcene, limonene and  $\alpha$ -terpinene with low content were also detected followed of the oxygenated compounds such as terpinen-4-ol and elemol, and diterpenes type phyllocladene, *ent*-kaurene and sandacopamaradiene were also detected (Annex, Figure 1).

It should be noted that, EO (18076**A1**) is enriched in all chemical constituents with an increase of the limonene content, when comparing with EO 1806**A1** from uncut branches (Annex, Figure 2).

In conclusion, *Cryptomeria uncut* branched collected from same region (Achadinha, Northeast, São Miguel) and quote (6) over month from May to July, and with the same distillation time, produced EOs (18056A4, 18066A1 e 18076A1) with similar  $^{13}\text{C}$  NMR chemical profiles. However, an increase of each constituent of the total percentages from July EO was detected, and with a slightly increase of the limonene.

The EO 18076A2 (uncut branches) from July have the same chemical composition than June EO (18066A2), despite a decrease slightly in percentages of  $\alpha$ -pinene, sabinene, myrcene, limonene and diterpenes, named phyllocladene e sandacopamaradiene, was observed (Annex, Figure 3).

July EO 18072A from uncut branches of Cora da Mata, Ribeirinha Grande, São Miguel (Woods ca. 40 years and quota 2) have variation in percentages of their constituents in comparison with the June OE 18062A. In the EO18072A, a decrease of  $\alpha$ -pinene and an increase of limonene,  $\gamma$ -terpinene, phyllocladene, and slightly increase of sabinene and *ent*-kaurene were detected (Annex, Figure 4).

**Acknowledgments:** Thanks are due to CQB, ref<sup>a</sup> UID/MULTI/0062/2013, and to project SAI-AZOR/2018/392.



GOVERNO  
DOS AÇORES



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu de  
Desenvolvimento Regional