

<https://doi.org/10.61308/HBIG9054>

Сравнително изследване съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди в български генотипи ориенталски тютюн

Величка Спасова-Апостолова, Маргарита Дочева, Аделина Гаръпова*,
Десислава Киркова

Институт по тютюна и тютюневите изделия, Марково, Селскостопанска Академия, София, България

*E-mail: adelina_garapova@abv.bg

Величка Спасова-Апостолова ORCID ID: 0000-0002-2509-9540

Маргарита Дочева ORCID ID: 0000-0001-7231-9705

Аделина Гаръпова* ORCID ID: 0009-0002-4312-7637

Десислава Киркова ORCID ID: 0000-0001-5394-0109

Резюме: Фенолните киселини и флавоноидите са вторични метаболити, които изпълняват редица функции, част от които свързани със стреса и адаптацията на растенията към различни условия на околната среда. В настоящото изследване е проучено съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди в български ориенталски тютюн в две последователни вегетационни години – 2023 г. и 2024 г., характеризиращи се с различни климатични условия, обуславящи необходимостта от различен брой поливки. Изследвани са общо 19 генотипа тютюн. Установена е промяна в съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди през двете изследвани вегетации. Малко по-ниските температури и количества валежи, измерени през 2023 г., съчетани с по-малко на брой поливки, обуславят по-високото съдържание на фенолни киселини и флавоноиди, в сравнение с изследваните проби от 2024 г. Климатичните условия през 2024 г. са компенсирани с повече поливки по време на вегетацията. Това е една от вероятните причини, водещи до намаляване съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди.

Ключови думи: ориенталски тютюн; общо фенолно съдържание; общо флавоноидно съдържание; полифенол

Comparative study of the content of phenolic acids and flavonoids in Bulgarian oriental tobacco genotypes

Velichka Spasova-Apostolova, Adelina Garapova*, Margarita Docheva, Desislava Kirkova

Tobacco and Tobacco Products Institute, Markovo, Agricultural Academy, Sofia, Bulgaria

*E-mail: adelina_garapova@abv.bg

Velichka Spasova-Apostolova ORCID ID: 0000-0002-2509-9540

Adelina Garapova ORCID ID: 0009-0002-4312-7637

Margarita Docheva ORCID ID: 0000-0001-7231-9705

Desislava Kirkova ORCID ID: 0000-0001-5394-0109

Citation: Spasova-Apostolova, V., Garapova, A., Docheva, M., & Kirkova, D. (2025). Comparative study of the content of phenolic acids and flavonoids in Bulgarian oriental tobacco genotypes. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 62(5) 101-108 (Bg).

Absrtact: Phenolic acids and flavonoids are secondary metabolites that perform a number of functions, some of which are related to stress and plant adaptation to different environmental conditions. In this study, the content of phenolic acids and flavonoids in Bulgarian oriental tobacco was studied in two consecutive growing years

- 2023 and 2024, characterized by different climatic conditions, determining the need for different numbers of irrigations. A total of 19 tobacco genotypes were studied. A change of the phenolic acids and flavonoids content was found during the two studied growing seasons. Slightly lower temperatures and precipitation in 2023, combined with fewer irrigations, resulted in a higher content of phenolic acids and flavonoids compared to the samples tested in 2024. The conditions in 2024 are compensated by more irrigation during the growing season. This is one of the probable causes leading to a decrease in the content of phenolic acids and flavonoids.

Key words: oriental tobacco; total phenolic content; total flavonoids content; polyphenols

ВЪВЕДЕНИЕ

Растенията продуцират освен първичните метаболити - белтъци, въглехидрати и липиди, и голям брой вторични метаболити - алкалоиди, фенолни киселини, флавоноиди, кумарини, каротеноиди и др. Съдържанието на тези вещества отразява механизма на адаптация на растенията към околната среда (Fu et al., 2022).

Биосинтеза на полифеноли (фенолни киселини и флавоноиди) се повишава в резултат на защитна функция при различни видове биотичен и абиотичен стрес (соленост, тежки метали, суша, температура, ултравиолетови лъчи, болести и др.) (Tuladhar et al., 2021; Fu et al., 2022). Освен това, тези вещества изпълняват и редица други функции, които са от значение не само за здравния статус на растенията, но и за тяхното нормално развитие. Те функционират като фитоалексини, действат като сигнални съединения при осъществяване на симбиотични връзки, например при сем. Fabaceae, като хелатиращи агенти, като модификатори на минерали в почвата и подобряват усвояването на някои елементи (Kumar et al., 2020; Samanta et al., 2011; Nandakumar & Rangaswamy, 1985; Pratyusha, 2022).

Тютюнът е една от основните култури с важна роля в селското стопанство. Основното приложение на тютюна е за производство на тютюневи изделия за пушене, дъвчене и смъркане (Banožić et al., 2020; Docheva et al., 2020). В миналото тютюнът е бил използван като лечебно растение, но след изолирането на алкалоида никотин и установяването на пристрастяващото му действие, използването

на тютюна като лечебно растение намалява (Mishra and Mishra., 2013).

До момента са известни повече от 4000 отделни химични вещества в тютюна. От вторичните метаболити в по-големи количества са фенолните киселини: неохлорогенова киселина, хлорогенова киселина, 4-О-кафеоилхинова киселина и флавоноидите - рутин и кемпферол-3-рутинозид (Docheva et al., 2018a; Docheva et al., 2018b; Docheva et al., 2020; Banožić et al., 2020). Факторите на околната среда имат по-голям ефект върху метаболизма на фенолните киселини и флавоноидите при тютюна, в сравнение с генотипа (Fu et al., 2022).

Повишеното съдържание на фенолни киселини и флавоноиди е предпоставка за получаване на тютюневи екстракти с висока антиоксидантна активност. Това от своя страна предполага потенциални алтернативни приложения на тютюна - козметични, фармацевтични и др. (Docheva et al., 2018a; Docheva et al., 2020; Al-Lahham et al., 2020; Prommaban et al., 2022).

На международните пазари българските ориенталски тютюни са известни с уникалното съчетание на съдържателност, ароматичност, добра горяемост и др. За националната ни икономика в миналото тютюна е имал икономически, търговски, социален и демографски аспект (Slavova, 2002).

България, като страна с дългогодишни традиции и съществен принос в производството и селекцията на тютюн, разполага с богат генетичен ресурс от сортове и линии с добри комплексни качества. Това позволява, не само създаване на тютюни с добри пуша-

телни качества, но и такива с ценни качества, свързани с алтернативното използване на тютюна за получаване на екстракти с високо съдържание на фенолни киселини и флавоноиди, притежаващи висока антиоксидантна активност. Съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди е изследвано само в една малка част от тези сортове (Docheva et al., 2020).

Целта на изследването е да се проследи съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди в български ориенталски тютюн през две последователни вегетации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Материал

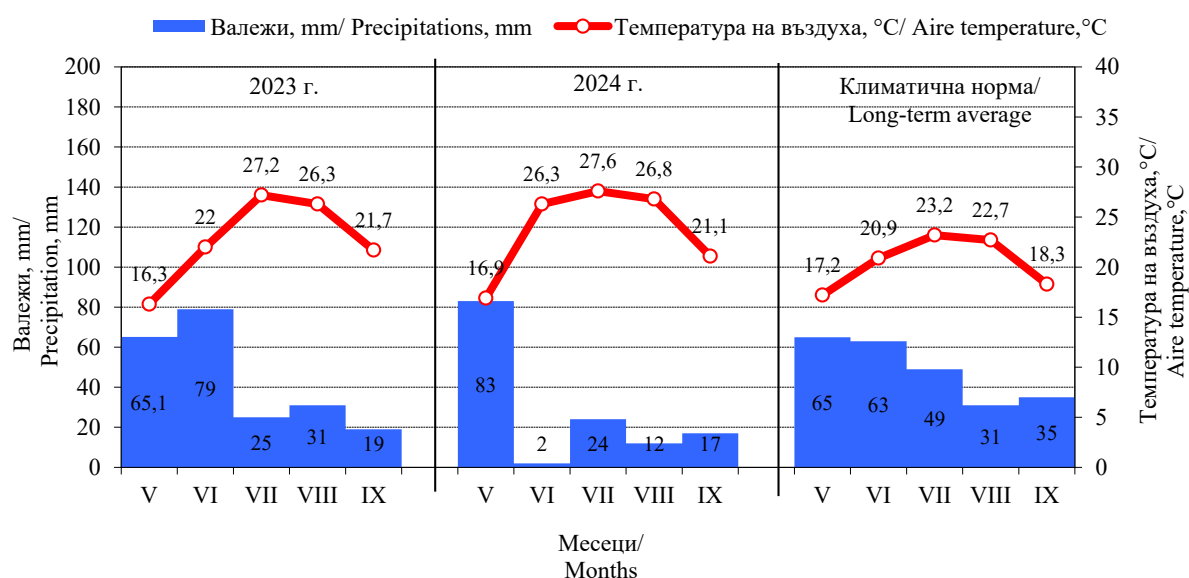
Тютюневи проби

Изследвани са 19 генотипа тютюн, от които 14 утвърдени сорта и 5 линии. В изследването са включени ориенталски сортове тютюн от различни екотипове: Крумовград 90, Крумовград 17, Рила 82, Рила 89, Дупница 160, Неврокоп 1146, Пловдив 7, Златна Арда, Еленски 817, Джебел 576, Джебел басма 81, Мюмюново семе, Секирка, Текне 61 и линии 18, 61, 63, 65 и 69.

Тютюнът е отгледан в Опитното поле на Институт по тютюна и тютюневите изделия (ИТТИ) с. Марково. Изследването е проведено в две последователни вегетации (2023 г. и 2024 г.), които се различават по метеорологични условия, и съответно агротехнически мероприятия. Сеитбата на лехите е извършвана през месец март. Разсаждането е извършвано през месец май за двете вегетационни години, спазвайки оптималната гъстота за отглеждане на ориенталски тютюн (Bozukov & Masheva, 2016). Тютюнът е изсушен слънчево. Манипулацията на сухия тютюн е извършена при естествени условия на навлажняване. След изсушаване и манипулация на тютюна от всяка проба се взима средна проба, която се смила на прах и анализира за съдържание на фенолни киселини и флавоноиди.

Метеорологичните условия (средна месечна температура и месечна сума на валежите) през 2023 г. и 2024 г. са представени на Фиг. 1.

Средната месечна температура през месец май, юни, юли и август 2024 г. е по-висока от 2023 г. За м. юни, юли, август и септември 2023 г., отчетените температури са по-високи от нормата с 6% - 19%. За същите месеци през 2024 г. температурите са с 16% - 26% над нор-



Фигура 1. Хидрометеорологични данни за гр. Пловдив – 2023 г. и 2024 г.

Figure 1. Hydrometeorological data for the Plovdiv city – 2023 and 2024.

мата. Изключение прави месец май, при който се отчитат 2% - 5% по-ниски стойности от нормата и през двете години.

За 2023 г. месечната сума на валежите за м. юли и септември е по-ниска от нормата с 49% - 46%, за м. юни е с 25% над нормата, а за м. май и август – измерените сумарни валежни количества са близки до нормата.

Месечната сума на валежите през 2024 г. е над нормата единствено през м. май (28%). През месеците юни, юли, август и септември, валежите са съответно 93%, 51%, 61% и 51% по-ниски от нормата, което наложи извършаването на повече поливки (3 поливки). За съпоставка - през 2023 г. е извършена само 1 поливка.

Реактиви

Всички химикали, използвани за приготвяне на тютюневи екстракти и определяне на общо фенолно съдържание и общо флавоноидно съдържание са с аналитична чистота, закупени са от Honeywall и Sigma Aldrich (САЩ).

Апаратура

Клатачна машина за получаване на тютюневи екстракти, спектрофотометър “Spectroquant Pharo 300”, UV/VIS (Merck, САЩ) за определяне на общо фенолно и флавоноидно съдържание.

Методи

Получаване на тютюневи екстракти

Сух тютюнев прах от листа (0,2 g) е екстрахиран с 10 ml 60% метанол за 30 мин на клатачна машина при стайна температура. Екстрактите са филтрувани и използвани за последващи анализи.

Определяне на общо фенолно съдържание (ОФС)

ОФС е определено чрез метода на Folin-Ciocalteu с някои модификации (Bojilov et al., 2018; Kirkova et al., 2024), 0,1 ml тютюнев екстракт (или стандарт), 6 ml вода, 0,2 M Folin-Ciocalteu реагент се поставят в епруветки.

След 4 минути се добавят 3,4 ml 7,5% Натриев карбонат. Пробите се поставят на тъмно за два часа, след което се измерва абсорбцията им при 765 nm срещу празна проба. Концентрацията на фенолни съединения се изчислява спрямо стандарт галова киселина в mg GAE/g.

Определяне на общо флавоноидно съдържание (ОФЛС)

ОФЛС е определено по известна процедура (Shraim et al., 2021) с леки модификации (Dureva et al., 2024). В епруветки последователно се поставя 0,5 ml тютюнев екстракт (или стандарт), 0,2 ml 10% алуминиев трихлорид (в метанол), 0,2 ml натриев ацетат и 4,1 ml метанол. Пробите се поставят на тъмно за един час при стайна температура, след което се измерва абсорбцията им при 400 nm. Концентрацията на флавоноидни съединения се изчислява спрямо стандарт рутин в mg RE/g.

Статистическа обработка на резултатите

За статистическата обработка на резултатите се използва Excel. Анализите са извършени в три повторения и резултатите са представени като средна стойност $\pm$ стандартно отклонение.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Фенолните киселини и флавоноидите са вторични метаболити, съставляващи около 7% от сухото тегло на тютюна. Съдържанието им зависи от сорта, зрелостта на тютюна, начина на сушене и ферментация, агрометеорологичните и агротехническите условия (Huabing et al., 2019; Lu et al., 2021; Zou et al., 2021).

Ориенталските сортовете тютюн от еко-тип Крумовград в последните години са с най-голям пазарен дял от изкупуваните ориенталски тютюни и най-изследвани по отношение на съдържание на фенолни киселини и флавоноиди (Docheva et al., 2018b; Docheva et al., 2020; Kasheva et al., 2021). Сортове тютюн

от екотип Джебел и от екотип Дупница са със слабо проучено фенолно и флавоноидно съдържание. До момента липсват данни за съ-

държанието на фенолни киселини и флавоноиди за сортове Златна Арда, Секирка, Тенке 61 и Линии - 18, 61, 63, 65 и 69.

Таблица 1. Общо фенолно и общо флавоноидно съдържание в сортове тютюн, реколта 2023 г. и 2024 г.
Table 1. Total phenolic and total flavonoid content of tobacco varieties and lines, harvest 2023 and 2024

	Реколта/Harvest	2023		2024	
	Сортове и линии ориенталски тютюн/ Varieties and lines of oriental tobacco	ОФС, mg GAE/g TPC, mg GAE/g	ОФлС, mg RE/g TFC, mg RE/g	ОФС, mg GAE/g TPC, mg GAE/g	ОФлС, mg RE/g TFC, mg RE/g
1.	Крумовград 90/ Krumovgrad 90	30,71±0,31	15,22±0,15	22,56±0,23	13,11±0,13
2.	Крумовград 17/ Krumovgrad 17	34,62±0,35	18,76±0,19	24,78±0,25	13,00±0,13
3.	Рила 82/ Rila 82	37,06±0,37	17,76±0,18	27,53±0,27	14,02±0,14
4.	Рила 89/ Rila 89	37,27±0,37	18,76±0,19	23,62±0,24	11,66±0,12
5.	Неврокоп 1146/ Nevrokop 11-46	37,27±0,37	20,94±0,21	25,95±0,26	15,65±0,16
6.	Дупница 160/ Dupnica 160	32,30±0,32	16,73±0,17	29,02±0,29	12,72±0,13
7.	Еленски 817/ Elenski 817	35,05±0,35	20,53±0,21	28,80±0,29	15,87±0,16
8.	Златна Арда/ Zlatna Arda	32,30±0,32	18,28±0,18	24,15±0,24	13,15±0,13
9.	Джебел 576/ Djebel 576	29,97±0,30	16,88±0,17	25,42±0,25	12,64±0,13
10.	Джебел басма 81/ Djebel basma 81	31,87±0,32	16,84±0,17	27,32±0,27	13,91±0,14
11.	Пловдив 7/ Plovdiv 7	34,20±0,34	18,58±0,18	27,85±0,29	13,62±0,14
12.	Мюмюново семе/ Myumyun seme/seed	36,95±0,37	19,94±0,20	26,90±0,27	13,51±0,14
13.	Секирка/ Sekirka	27,53±0,28	15,29±0,15	22,14±0,22	11,07±0,11
14.	Текне 61/ Tekne 61	33,35±0,33	17,25±0,17	29,02±0,29	15,32±0,15
15.	Линия 18/ Linia 18	33,99±0,34	16,80±0,17	26,26±0,26	13,84±0,14
16.	Линия 61/ Linia 61	29,02±0,29	13,85±0,14	27,11±0,27	14,02±0,14
17.	Линия 63/ Linia 63	29,23±0,29	13,11±0,13	24,04±0,24	13,26±0,13
18.	Линия 65/ Linia 65	30,81±0,38	16,47±0,16	21,93±0,22	11,39±0,11
19.	Линия 69/ Linia 69	30,39±0,30	17,95±0,18	28,70±0,29	15,29±0,15

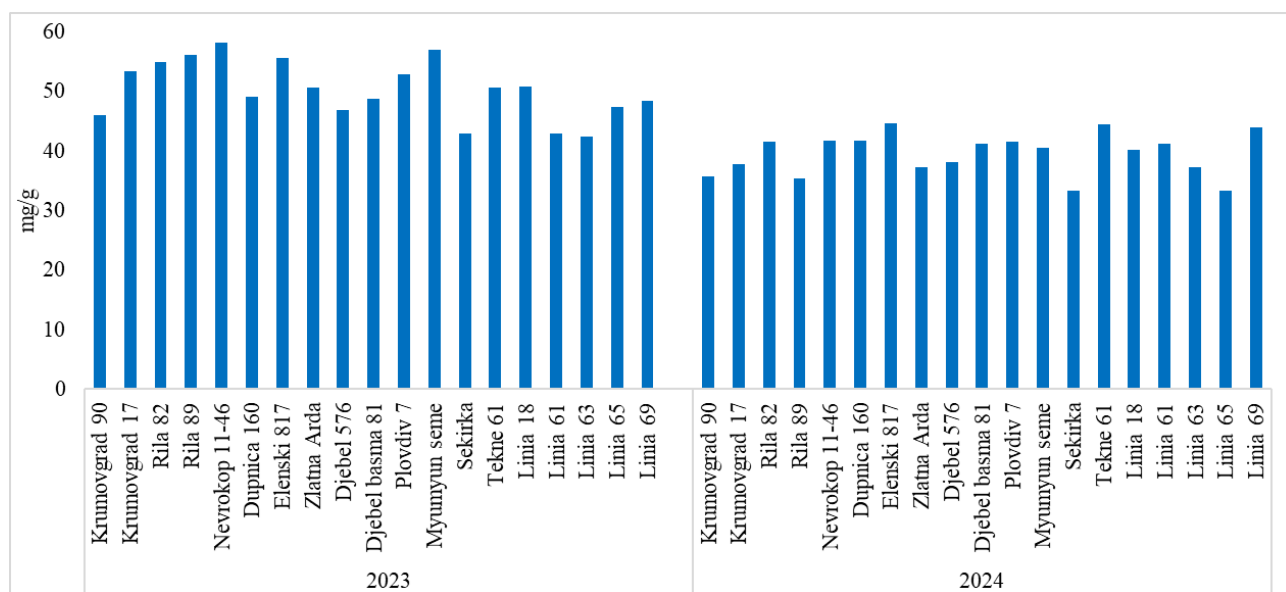
През 2023 г. е извършен първоначален скрининг на сортове и линии ориенталски тютюн за съдържание на фенолни киселини и флавоноиди. Резултатите са представени в Табл. 1. При всички изследвани проби съдържанието на фенолни киселини е по-високо от съдържанието на флавоноиди. С най-високо съдържание на фенолни киселини се характеризират сортовете Рила 82, Рила 89 и Неврокоп 1146 (средно 37 mg GAE/g). С най-ниско общо фенолно съдържание е сорт Секирка - $27,53 \pm 0,28$ mg GAE/g. Изследваните линии заемат междинно положение по отношение на съдържанието на фенолни киселини. Съдържанието на флавоноиди в изследваните тютюни варира от $13,11 \pm 0,13$ mg RE/g (Линия 63) до $20,94 \pm 0,21$ mg RE/g (сорт Неврокоп 1146).

На Фигура 2 е представено съдържанието на рутин+хлорогенова киселина, които съставляват около 85% от общите полифеноли в изследваните генотипове тютюн. С най-високо полифенолно съдържание през 2023 г. се открояват сортовете Неврокоп 1146 ($58,21 \pm 0,58$ mg/g), Мюмюново семе ($56,89 \pm 0,57$ mg/g), Рила 89 ($56,03 \pm 0,56$ mg/g) и Еленски 817 ($55,58 \pm 0,56$ mg/g) (Фиг.2).

През 2024 г. се наблюдава намаляване на съдържанието на фенолни киселини при всички изследвани проби и на флавоноидите при 89-90% от пробите. През 2024 г. общото фенолно съдържание варира от $21,93 \pm 0,22$ mg GAE/g (Линия 65) до $29,02 \pm 0,29$ mg GAE/g (сорт Дупница 160 и сорт Тенке 61). Общото флавоноидно съдържание варира в по-тесни граници – от $11,07 \pm 0,11$ mg RE/g (сорт Секирка) до $15,87 \pm 0,16$ mg RE/g (сорт Еленски 817).

С най-високо полифенолно съдържание през 2024 г. са сорт Еленски 817 ($44,67 \pm 0,45$ mg/g), сорт Текне 61 ($44,34 \pm 0,44$ mg/g) и Линия 69 ($43,99 \pm 0,44$ mg/g) (Фиг. 1). При сорт Дупница 160 е отчетено само високо фенолно съдържание, а при сорт Неврокоп 1146 и сорт Еленски 817 - високо флавоноидно съдържание (Табл.1).

При по-ранни изследвания за полифенолното съдържание на български сортове ориенталски тютюн е установено, че съдържанието на полифеноли в сорт Мюмюново семе е $50,79 \pm 3,99$ mg/g (Docheva et al., 2020). В настоящото изследване съдържанието на полифеноли е $56,89$ mg/g (рек. 2023 г.) и $40,41$ mg/g (рек. 2024 г.), което се доближава до резулта-



Фигура 2. Съдържание на полифеноли в тютюн, реколта 2023 г. и 2024 г.

Figure 2. Polyphenol content in tobacco, harvest 2023 and 2024

тите, получени от предишни изследвания. В изследване от 2023 г. е установено по-високо съдържание на фенолни киселини и флавоноиди при сорт Неврокоп 1146, сравнено с това на Крумовград 58 (Kasheva et al., 2023), което се потвърждава и от настоящото изследване.

Съдържанието на полифеноли в турски сортове ориенталски тютюни е между 0,174 mg/g и 2,02 mg/g и е по-ниско в сравнение с изследваните български ориенталски тютюни (Kurt, 2021).

От резултатите, представени в Табл. 1 се установява намаляване на съдържанието на фенолни киселини и на флавоноиди при всички изследвани проби през реколта 2024 г. Прави впечатление, че намаляването в съдържанието на фенолните киселини е по-голямо в сравнение с флавоноидите.

Съдържанието на фенолните киселини на изследваните проби се понижава средно с 6,88 mg GAE/g. Най-голямо редуциране през 2024 г. се наблюдава при сорт Рила 89 – 13,65 mg GAE/g, сорт Неврокоп 1146 – 11,32 mg GAE/g и сорт Мюмюново семе – 10,05 mg GAE/g. Най-малка разлика се наблюдава при Линия 69 - 1,69 mg GAE/g.

Средното съдържание на флавоноиди намалява с 4,00 mg RE/g, като най-голямо намаляване на общото флавоноидно съдържание се наблюдава при сортове Рила 89 – 7,1 mg RE/g и Мюмюново семе - 6,43 mg RE/g, а най-малка е разликата при сорт Тенке 61 – 1,93 mg RE/g. Само при линиите 61 и 63, общото флавоноидно съдържание се променя в много тесни граници от 0,15 mg RE/g – 0,17 mg RE/g в посока към увеличаване.

По-ниското съдържание на фенолни киселини и флавоноиди през 2024 г. най-вероятно се дължи на агротехническите мероприятия, а именно повечето извършени поливки, което е свързано с по-малката месечна сума на валежите.

Резултатите от настоящото изследване са в съответствие с изследването на Fu et. al. (2022), които установяват, че при тютюна генотипът оказва по-малко влияние върху съдържанието на полифеноли, в сравнение с

абиотичните фактори – районите на отглеждане и климатичните условия (Fu et al., 2022).

Получените данни са в съответствие с изследванията и с други култури от сем. *Solanaceae*, които обобщават, че при различни екстремни фактори на околната среда (високи или ниски температури, засоляване, засушаване), се стимулира биосинтеза на фенолни киселини и флавоноиди, като по този начин растенията се предпазват от възникнал стрес (Atanasova et. al., 2013; Farooq et al., 2021).

ИЗВОДИ

Направен е скрининг на съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди в 19 генотипа от ориенталски тютюни. Установено е вариране в съдържанието на фенолните киселини и флавоноидите както между генотиповете, така и в двете изследвани години.

По-високите температури и по-малкото количество валежи през 2024 г., компенсирани с агротехнически мероприятия по време на вегетацията (повече поливки), е една от вероятните причини, водещи до намаляване на съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди.

ЛИТЕРАТУРА

- Al-Lahham, S., Sbieh, R., Jaradat, N., Almasri, M., Mosa, A., Hamayel, A. & Hammad, F. (2020). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of four different extracts derived from the roots of *Nicotiana tabacum* L. *European Journal of Integrative Medicine*, 33, 101039.
- Atanasova, A., Tringovska, I., Denev, P., Ganeva, D., Grozeva, S., & Krachanova, M. (2013). CONTENT OF POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GREENHOUSE AND FIELD GROWN TOMATOES. *International scientific online journal "Science and Technology"*. Volume III, Number 6, pp. 81-85.
- Banožić, M., Babić, J., & Jokić, S. (2020). Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste-a review. *Industrial Crops and Products*, 144, 112009.
- Bojilov, D., Manolov, S., Bozadzhiev, B., Stremski, J., & Ivanov, I. (2018). Antioxidant activity in two species

- common bean (*Phaseolus Vilgaris* L.) from village of Smilyan, Bulgaria. *Journal of International Scientific Publications*, 6, pp. 314-324.
- Bozukov, H., & Masheva, V.** (2016). Instructions for oriental tobacco growing in Bulgaria. https://www.mzh.government.bg/media/filer_public/2018/02/13/instr-ot-2016.pdf (Bg).
- Docheva, M. H., Kochev, Y. G., Kirkova, D. M., & Stoilova A. B.** (2020). Antioxidant activity and chemical composition of crude extracts from different tobaccos and tobacco blends. *Bulgarian Chemical Communications*, 52, Special Issue D, pp.149-154.
- Docheva, M. H., Popova, V. T., Ivanova, T. A., Nikolaeva, V. V., Hristeva, T. H., & Nikolov, N. N.** (2018a). Polyphenol content and antioxidant activity of aqueous/methanol extracts from different tobacco species (*Nicotiana*). *Bulgarian Chemical Communications*, 50(4), 553-559.
- Docheva, M., Stoilova, A., Kochev, Y., & Kirkova, D.** (2018b). Determination of polyphenols in tobacco, tobacco blends, tobacco smoke and butts of different cigarette brands. *Comptes rendus de l'Acad'emie bulgare des Sciences*, 71(6), 757-765.
- Dureva, V., Kirkova, D., & Stoyanova, L.** (2024). Spectrophotometric determination of flavonoids in tobacco. In: Proceedings of Youth Forum "Science, technology, innovation, business", Plovdiv, III-th section, pp. 112-117 (Bg).
- Farooq, M., Ahmad, R., Shahzad, M., Sajjad, Y., Hassan, A., Shah, M. M., Naz, S., & Khan, S. A.** (2021). Differential variations in total flavonoid content and antioxidant enzymes activities in pea under different salt and drought stresses. *Scientia Horticulturae*, 287.
- Fu, B., Liang, J., Zhang, M., Zhao, M., Ji, X., & Wang, J.** (2022). Influence of Genotypic and Environmental Factors on Tobacco Leaves Based on Metabolomics. *Life (Basel)*, 12(4), 590.
- Huabing, L., Xiaoyin, S., Jianguo, L., Changhe, C., Xiaobin, Z., Shen, X., Yonggang, Z., Huiqing, J., Shixiao, X., Tiezhao, Y., & Guangjin, Z.** (2019). Effects of maturity, variety and their interaction on polyphenols in flue-cured tobacco. *Chinese Tobacco Sci.*, 40(4), 29-36.
- Kasheva, M., Bozukov, H., & Docheva, M.** (2023). Quality assessment parameters of organic oriental tobacco. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 60(2) 50-55.
- Kasheva, M., Masheva, V., & Spasova-Apostolova, V.** (2021). Characteristics of tobacco breeding Accessions of group "Basmi" – Ecotype Krumovgrad and East Balkan. In: *Proceedings of National Scientific Conference with International Participation "Ecology and Health"*, Plovdiv, Ist section, 58-64. (Bg).
- Kirkova, D., Docheva, M., Stoyanova, L. Stremski, Y., Statkova-Abeghe, S. Petrova, V., & Kochev, Y.** (2024). Secondary metabolites from tobacco and different natural herbs, extracted by maceration with polar solvents. *Bulgarian Chemical Communications*, 56 (Special Issue D1), 172-177.
- Kumar, S., Abedin, M. M., Singh, A. K., & Das, S.** (2020). Role of Phenolic Compounds in Plant-Defensive Mechanisms. *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture*, 1, 517-532.
- Kurt, D.** (2021). Impacts of Environmental Variations on Quality and Chemical Contents of Oriental Tobacco. *Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research*, 30(1), 50-62.
- Lu, S. H., Zhang, J. W., Zhao, Z., Zhong, Q., Zhang, R. N., & Zhao, M.Q.** (2021). Effect of temperature on polyphenols metabolism of cigar tobacco leaf during air-curing process. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 43, 1-9.
- Mishra, S., & Mishra, M. B.** (2013). Tobacco: Its historical, cultural, oral, and periodontal health association. *J. Int Soc Prev Community Dent*, 3(1), 12-18.
- Nandakumar, L., & Rangaswamy, N. S.** (1985). Effect of some Flavonoids and Phenolic Acids on Seed Germination and Rooting. *Journal of Experimental Botany*, 36(169), 1313-1319.
- Pratyusha, S.** (2022). Phenolic Compounds in the Plant Development and Defense: An Overview. *Plant Stress Physiology - Perspectives in Agriculture*, 1-17.
- Prommaban, A., Kheawfu, K., Chittasupho, C., Sirilun, S., Hemsuwimon, K., & Chaaryana, W.** (2022). Phytochemical, antioxidant, antihyaluronidase, antityrosinase, and antimicrobial properties of *Nicotiana tabacum* L. leaf extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022(1), 5761764.
- Samanta, A., Das, G., & Das, S. K.** (2011). Roles of flavonoids in Plants. *International Journal of pharmaceutical science and technology*, 6, 12-35.
- Slavova, Y.** (2002). Competitiveness of Bulgarian oriental tobacco. In: *Collection of reports from the second Balkan Scientific Conference Quality and Efficiency of Tobacco Production. Processing and Reprocessing*, Plovdiv, 2002, 22-26 (Bg).
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M.** (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT – Food Science and Technology*, 150, 111932.
- Tuladhar, P., Sasidharan, S., & Saudagar, P.** (2021). Role of phenols and polyphenols in plant defense response to biotic and abiotic stresses. In: *Biocontrol agents and secondary metabolites* (pp. 419-441). Woodhead Publishing.
- Zou, X., Bk, A., Rauf, A., Saeed, M., Al-Awthan, Y. S., A Al-Duais, M., Bahattab, O., Hamayoon Khan, M., & Suleria, H. A. R.** (2021). Screening of Polyphenols in Tobacco (*Nicotiana tabacum*) and Determination of Their Antioxidant Activity in Different Tobacco Varieties. *ACS Omega*, 6(39), 25361-25371.