



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO.
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS.



**PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y BIOACTIVAS DE UN TÉ DE HOJAS DE
NARANJA AGRIA (*Citrus aurantium*) ENDULZADO CON STEVIA (*Stevia
rebaudiana*)**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ESPERANZA CRUZ REYES

BAJO DE LA DIRECCIÓN DE:

DR. JUAN GUZMÁN CEFERINO

EN CODIRECCIÓN DE:

MC. TEMANI DURAN MENDOZA

VILLAHERMOSA TABASCO, AGOSTO DE 2026

Declaración de Autoría y Originalidad

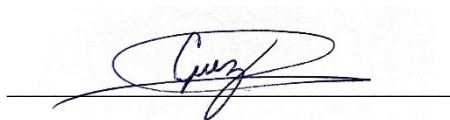
En la Ciudad de Villahermosa, el día 06 del mes de Julio del año 2026, la que suscribe Esperanza Cruz Reyes alumna del Programa de Ingeniería en Alimentos con número de matrícula 192C22014, adscrito a la División de Académicas de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la Tesis presentada para la obtención del título de Ingeniero en Alimentos y titulado “Propiedades fisicoquímicas y bioactivas de un té de hojas de naranja agria (*Citrus Aurantium*) endulzado con Stevia (*Stevia Rebaudiana*)” dirigida por el Dr. Juan Guzmán Ceferino y co – dirigida por la MC. Temani Duran Mendoza.

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del primero de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoridad o falta de originalidad o contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente

Villahermosa, Tabasco a 28 de junio de 2026



Esperanza Cruz Reyes

Autorización de impresión



Coordinación de Estudios Terminales

Asunto: Autorización de impresión
de Trabajo Recepcional.
Fecha: 14 de abril de 2026.

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y
TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), le informo que, con base en el artículo 113 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, la Dirección a mi cargo **autoriza** al **C. Esperanza Cruz Reyes**, con matrícula **192C22014**, egresado(a) de la Licenciatura de **Ingeniería en Alimentos** de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, **la impresión de su Trabajo Recepcional** bajo la modalidad de **Tesis**, titulado: **PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y BIOACTIVAS DE UN TÉ DE HOJAS DE NARANJA AGRIA (*citrus aurantium*) ENDULZADO CON STEVIA (*Stevia rebaudiana*)**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

M.V.Z. JORGE ALFREDO THOMAS TELLEZ
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN

Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa Tabasco a 28 de junio de 2026

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como autores en la producción, creación y/o realización de la obra denominada “Propiedades fisicoquímicas y bioactivas de un té de hojas de naranja agria (*Citrus aurantium*) endulzado con stevia (*Stevia rebaudiana*)”.

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad de Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la universidad.

COLABORADORES



Esperanza Cruz Reyes, Juan Guzmán Ceferino y Temani Duran Mendoza.

TESTIGOS



María Victoria Pérez Fuentes



Zahory Varinia Ricardez Tejeda

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a mis padres, a mi madre María Rocío por siempre ser paciente, darme esa confianza, fuerza y mucho apoyo moral. A mi padre José Antonio que ha sido mi compañero en mis desvelos y siempre escucharme. Son mi mayor ejemplo de amor, esfuerzo y perseverancia. Gracias por creer en mí incluso en los momentos en los que yo dude. Este logro también es suyo.

A mis hermanas, Ana Karina y Sofía por ser mi apoyo constante, mis compañeras de desvelos, por su comprensión, palabras de ánimo y por recordarme siempre quién soy y hasta dónde puedo llegar.

A mi amiga Brenda, que nunca dejó de confiar en mí, por ser mi equipo, mi impulso y mi red de apoyo, por caminar conmigo en este proceso a pesar de la distancia y recordarme que los sueños se alcanzan mejor cuando se comparten.

A mis compañeras y amigas de generación: Victoria y Zahory, por compartir conmigo este camino lleno de aprendizajes, retos y crecimiento, por hacer un buen equipo, por el apoyo incondicional y por enseñarme que las buenas amigas existen.

A mis perritas, mis compañeras fieles en las noches de desvelo, quienes con su presencia, ternura y silencio hicieron más llevadero cada esfuerzo y me brindaron consuelo en los momentos de cansancio.

A mi yo pequeña, a esa niña tímida y callada que siempre fue curiosa, ansiosa y miedosa por lo desconocido pero que alguna vez imaginó un futuro sin saber cuántos retos habría en el camino. Gracias por soñar sin miedo, por creer que todo era posible y por sembrar la ilusión que hoy florece en este logro. Finalmente a mi yo de hace cinco años, cuando inicié esta carrera con dudas, expectativas y esperanza. Gracias por no rendirte en los momentos difíciles, por levantarte cuando el cansancio pesaba más que la motivación y por seguir adelante incluso cuando el camino parecía incierto.

A todos ustedes, gracias por formar parte de este logro que hoy culmina una etapa importante de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

He esperado tanto este momento que las palabras son difíciles de plasmar, es el final de esta etapa, algo larga, con altas y bajas, pero vengo aquí en la mejor manera que esta. Quiero expresar mi agradecimiento a Dios por darme la fortaleza, salud y paciencia necesarias para continuar mi camino y recordarme que nunca estuve sola en este proceso.

A mis padres María Rocío y José Antonio, mi mayor apoyo y ejemplo de amor y perseverancia. Gracias por su confianza incondicional, por cada sacrificio, por sus palabras de ánimo y por impulsarme a seguir adelante cuando las fuerzas parecían agotarse.

A mis hermanas, por su compañía constante, su cariño y por ser un refugio en los momentos de duda y cansancio. Su apoyo ha sido fundamental a lo largo de esta etapa.

A mis amigos, gracias por creer en mí, por confiar en mis capacidades y por ser siempre mi equipo. Su apoyo, paciencia y ánimo constante hicieron este camino más llevadero y significativo.

A mis compañeras y amigas de generación Victoria y Zahory, gracias por su apoyo constante, por las risas que aligeraron los momentos difíciles, por las palabras de ánimos y por demostrarme que el trabajo en equipo y la amistad hacen cualquier meta más alcanzable.

A mi asesor el Dr. Juan Guzmán, por su orientación, paciencia y acompañamiento a lo largo de este proyecto. Su experiencia, dedicación y disposición para compartir sus conocimientos fueron fundamentales para el desarrollo y culminación de este trabajo. Agradezco profundamente sus observaciones, consejos y el tiempo brindado, los cuales contribuyen de manera significativa a mi formación académica y profesional.

Finalmente, agradezco a todos aquellos que, de una u otra forma, formaron parte de este proceso y contribuyeron a que este objetivo se hiciera realidad.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1 Plantas medicinales	2
2.1.1 Origen	2
2.1.2 Uso	3
2.2 Naranja agria	4
2.2.1 Origen y distribución	4
2.2.2 Taxonomía y botánica	4
2.2.3 Composición química	6
2.2.4 Características bioactivas de las hojas de naranja agria.....	7
2.2.5 Propiedades medicinales.....	8
2.2.6 Usos y aplicaciones.....	9
2.3 Stevia.....	9
2.3.1 Origen y distribución	9
2.3.2 Taxonomía y botánica	10
2.3.3 Composición química	12
2.3.4 Características bioactivas.....	12
2.3.5 Uso tradicional	13
2.4 Tés	13

2.4.1 Origen y distribución	14
2.4.2 Legislación mexicana.....	15
2.4.3 Características bioactivas.....	15
2.4.4 Secado o fijación de hojas.....	16
III. JUSTIFICACIÓN.....	17
IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	18
V. HIPÓTESIS	19
VI. OBJETIVOS.....	20
6.1 Objetivo general.....	20
6.2 Objetivos específicos	20
VII. METODOLOGÍA.....	21
7.1 Área de estudio y muestreo	21
7.2 Proceso de la muestra.....	21
7.3 Cuantificación de polifenoles totales.....	22
7.5 Determinación del contenido de ácido clorogénico.....	23
7.6 Determinación de DPPH	23
7.7 Determinación de contenido de taninos totales.....	23
7.8 Determinación de ABTS	24
7.9 Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP).....	24
7.10 Determinación de azúcares totales por el método de fenol – sulfúrico.....	24
7.11 Estimación del color.....	25
7.12 Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>	26
7.13 Actividad hemolítica	26
7.14 Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa.....	27

7.15 Determinación de acidez titulable	28
7.16 Determinación de pH	28
7.17 Evaluación sensorial.....	28
7.18 Análisis de datos y estadístico	29
VIII. RESULTADOS.....	30
8.1 Cuantificación de polifenoles totales.....	30
8.2 Determinación de flavonoides	31
8.3 Determinación de ácido clorogénico	33
8.4 Determinación de la capacidad antioxidante por medio de las técnicas ABTS y DPPH	34
8.5 Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)	36
8.6 Determinación de azúcares totales por el método de fenol – sulfúrico	38
8.7 Estimación de color	40
8.8 Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>	41
8.9 Actividad hemolítica	42
8.10 Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa	44
8.11 Determinación de pH y acidez titulable.....	46
8.12 Determinación de Taninos	48
8.13 Evaluación sensorial.	50
IX. DISCUSIÓN	54
9.1 Cuantificación de polifenoles totales.....	54
9.2 Determinación de flavonoides	55
9.3 Determinación de ácido clorogénico	56
9.4 Determinación de la capacidad antioxidante por medio de las técnicas ABTS y DPPH	57

9.5 Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)	58
9.6 Determinación de azúcares totales por el método de fenol – sulfúrico	59
9.7 Estimación de color	60
9.8 Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>	60
9.9 Actividad hemolítica	61
9.10 Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa	62
9.11 Determinación de pH y acidez titulable	63
9.12 Determinación de Taninos	64
9.13 Evaluación sensorial.	64
X. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	66
XI. REFERENCIAS	68
XII. ANEXO	77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Elaboración de extractos.....	22
Tabla 2. Tratamientos evaluados sensorialmente.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación taxonómica de <i>Citrus aurantium</i> L.....	4
Figura 2. Hoja de naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>).....	5
Figura 3. Flor de <i>Citrus aurantium</i>	5
Figura 4. Fruto de naranja agria	6
Figura 5. Clasificación taxonómica de <i>Stevia rebaudiana</i>	10
Figura 6. Hojas de la <i>Stevia</i>	11
Figura 7. Flor y hoja de la <i>Stevia</i>	11
Figura 8. <i>Camellia sinensis</i>	14
Figura 9. Contenido Fenólico total en extractos acuosos de té de naranja agria con <i>Stevia</i> y sin <i>Stevia</i> y de <i>Stevia</i> sola	30
Figura 10. Contenido Flavonoides total en extractos acuosos de té de naranja agria con <i>Stevia</i> y sin <i>Stevia</i> y de <i>Stevia</i> sola	32
Figura 11. Contenido Acido clorogénico en extractos acuosos de té de naranja agria con <i>Stevia</i> y sin <i>Stevia</i> y de <i>Stevia</i> sola.	33
Figura 12. Actividad antioxidante (ABTS) en extractos acuosos de té de naranja agria con <i>Stevia</i> y sin <i>Stevia</i> y de <i>Stevia</i> sola.	35

Figura 13. Actividad antioxidante (DPPH) en extractos acuosos de té de naranja agria con Stevia y sin Stevia y de Stevia sola.	36
Figura 14. Capacidad Antioxidante Equivalente a sulfato férrico en extracto acuoso de té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.	37
Figura 15. Contenido de Azúcares totales obtenidos de infusiones de naranja agria con Stevia y sin Stevia y de Stevia sola.	38
Figura 16. Gráfico de absorbancia obtenido de infusiones de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.	40
Figura 17. Actividad antiinflamatoria de extractos acuosos de té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.	42
Figura 18. Actividad hemolítica de infusiones de hoja de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.	43
Figura 19. Actividad antidiabética obtenida de extractos acuosos de hojas de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.	44
Figura 20. Comportamiento del pH en las infusiones de té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.	46
Figura 21. Comportamiento de la acidez en las infusiones evaluadas de un té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.	47
Figura 22. Taninos obtenidos de extractos acuosos de té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.	49
Figura 23. Preferencias de olor hacia las infusiones de naranja agria con y sin Stevia.	51
Figura 24. Preferencias de color hacia las infusiones de naranja agria con y sin Stevia.	51
Figura 25. Preferencias de sabor hacia las infusiones de naranja agria con y sin Stevia.	52
Figura 26. Acondicionamiento de materia prima (hojas de naranja agria).	77

Figura 27. Secado de hojas de naranja agria	77
Figura 28. Molienda y tamizado de hojas de naranja agria	78
Figura 29. Elaboración del té.....	78
Figura 30. Resultados de análisis antioxidantes (Polifenoles, Acido clorogénicos, ABTS Y DPPH).....	79
Figura 31. Determinación de poder antioxidante reductor férrico (FRAP).....	79
Figura 32. Determinación de azúcares totales.....	80
Figura 33. Determinación de la actividad inhibitoria de la enzima α - amilasa.....	80
Figura 34. Actividad hemolítica	81
Figura 35. Determinación de acidez titulable.....	82
Figura 36. Evaluación sensorial	82

Propiedades fisicoquímicas y bioactivas de un té de hojas de naranja agria (*Citrus aurantium*) endulzado con Stevia (*Stevia rebaudiana*)

RESUMEN

El presente estudio evaluó el efecto de la adicción de *Stevia rebaudiana* en las propiedades fisicoquímicas, antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas, así como parámetros fisicoquímicos (pH, acidez titulable, azúcares totales y color) y sensoriales de infusiones elaboradas a partir de hojas de *Citrus aurantium*. Se prepararon extractos acuosos a diferentes concentraciones de materia vegetal. Los resultados demostraron que la adición de Stevia potenció, en la mayoría de los casos, el contenido fenólico (4.8 mg EAG/g ms té con Stevia y 4.2 mg EAG/G ms sin Stevia), y flavonoides (valores entre 2.8 – 3.5 mg EC/g ms), además de mejorar la capacidad antioxidante (1.42 mmol Fe²⁺/L con Stevia y 1.37 Fe²⁺/L sin Stevia) y reducir la actividad hemolítica, sugiriendo un efecto protector.

Asimismo, se observó una elevada actividad antiinflamatoria en todas las formulaciones y un incremento significativo en la inhibición de α -amilasa (>90% con Stevia y 25.80% sin Stevia) en las infusiones con Stevia, lo que indica un potencial efecto antidiabético. En cuanto a las propiedades fisicoquímicas, la Stevia reguló la acidez y contribuyó a un perfil neutro del producto (pH entre 4.2 – 5.0), mientras que sensorialmente mejoró la aceptabilidad del sabor en concentraciones bajas e intermedias, sin alterar significativamente el aroma ni el color. En conjunto, los hallazgos confirman el potencial de las infusiones de *Citrus aurantium* con Stevia como una bebida funcional natural con aplicaciones en la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo y metabólico.

Palabras clave: Naranja agria, *Stevia rebaudiana*, contenido polifenolico, antioxidantes, infusión.

ABSTRACT

This study evaluated the effect of adding *Stevia rebaudiana* on the physicochemical, antioxidant, anti-inflammatory, and antidiabetic properties, as well as physicochemical parameters (pH, titratable acidity, total sugars, and color) and sensory characteristics of infusions made from *Citrus aurantium* leaves. Aqueous extracts were prepared at different concentrations of plant material. The results showed that the addition of Stevia enhanced, in most cases, the phenolic content (4.8 mg EAG/g dry weight tea with Stevia and 4.2 mg EAG/g dry weight tea without Stevia) and flavonoids (values between 2.8–3.5 mg EC/g dry weight), in addition to improving antioxidant capacity (1.42 mmol Fe²⁺/L with Stevia and 1.37 Fe²⁺/L without Stevia) and reducing hemolytic activity, suggesting a protective effect.

Likewise, high anti-inflammatory activity was observed in all formulations and a significant increase in α -amylase inhibition (>90% with Stevia and 25.80% without Stevia) in infusions with Stevia, indicating a potential antidiabetic effect. In terms of physicochemical properties, Stevia regulated acidity and contributed to a more neutral product profile (pH between 4.2–5.0), while sensorially improving flavor acceptability at low and intermediate concentrations without significantly altering aroma or color. Overall, the findings confirm the potential of *Citrus aurantium* infusions with Stevia as a natural functional beverage with applications in the prevention of diseases associated with oxidative and metabolic stress.

Keywords: Bitter orange, *Stevia rebaudiana*, polyphenolic content, antioxidants, infusion.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han tenido un uso que nunca ha cesado, los avances en ciencia y tecnología han ayudado a sintetizar sus principios activos para poder emplearlos en dosis adecuadas para cada tratamiento. En México, desde la época previa a la conquista, las plantas medicinales han representado un recurso terapéutico en la medicina tradicional para el tratamiento de diversos padecimientos (Villarreal-Ibarra *et al.*, 2023).

De acuerdo con la Secretaría de Salud, el 90% de la población mexicana ha optado por alguna de las 4,500 especies de plantas con atributos medicinales, de las cuales solo al 5% se le han realizado análisis farmacológicos (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2021).

La naranja agria (*Citrus aurantium*) tiene su origen en la región oriental de la India, sin embargo, en la actualidad es cultivada en gran parte de zonas tropicales y templadas de todo el mundo. Las hojas de naranja agria presentan compuestos fenólicos (taninos), flavonoides y aminoácidos (Valencia *et al.*, 2021). Por otro lado, la Stevia (*Stevia rebaudiana*) tiene su origen en la región oriental de las llanuras del Paraguay, su cultivo en México fue introducido hace una década (Gayosso-Rodríguez *et al.*, 2023).

Las hojas de la Stevia contienen compuestos como los glucósidos de esteviol, flavonoides, ácido quínico y cafeico y sus derivados, sesquiterpénoides, oligosacáridos y retinoides (Horacio *et al.*, 2017). Su uso en la formulación de las infusiones no solo modifica su perfil gustativo, sino que también introduce un elemento adicional de interés en términos de control de peso y manejo de enfermedades metabólicas.

La combinación de estas dos plantas en una infusión permite una exploración innovadora de sus interacciones fisicoquímicas y bioactivas. Este estudio se centra en analizar la composición fisicoquímica de las infusiones resultantes, evaluando así sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, y determinar el impacto del endulzante natural sobre los compuestos bioactivos presentes en las hojas de naranja agria. La investigación busca responder preguntas clave sobre el efecto de estos ingredientes y su potencial para ofrecer beneficios saludables en una bebida funcional.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Plantas medicinales

La Organización Mundial de la Salud (OMS) definió en 1978 a las plantas medicinales como “cualquier especie vegetal que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir para la síntesis de nuevos fármacos” (Cañigüeral *et al.*, 2019).

Se informa que hay aproximadamente 50.000 especies de plantas que tienen algún valor medicinal, lo que representa aproximadamente el 10% del número total de plantas existentes en el mundo. El uso de estas plantas nunca ha cesado, los avances en ciencia y tecnología han ayudado a que los principios activos contenidos en estas plantas se sintetizen químicamente, permitiendo venderlos en farmacias a precios accesibles y en dosis adecuadas para cada tratamiento. Actualmente, la OMS estima que el 80% de la población mundial depende de la medicina tradicional para sus necesidades de atención primaria en salud (Maldonado *et al.*, 2020).

En México, la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) señala, con base en registros del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), que existen alrededor de 3,000 especies de plantas con propiedades medicinales, de un estimado total de 4,500 en el país. Esto equivale aproximadamente al 15% del total de flora nacional; sin embargo, únicamente el 5% de estas especies ha sido sometido a estudios farmacológicos. De ese porcentaje, cerca de 250 plantas se comercializan de forma habitual, aunque el 85% se obtiene directamente de ambientes silvestres sin esquemas de manejo sustentable. A pesar de ello, se estima que el 80% de la población mexicana ha recurrido al uso de estas plantas (SEMARNAT, 2021).

2.1.1 Origen

El origen exacto no está claro ni la forma o el momento en que el hombre entró en contacto por primera vez con las plantas, pero está claro que la culturas “primitivas” descubrieron sustancias medicinales. En las culturas históricas más remotas, como Mesopotamia y Egipto, existían eficaces hierbas medicinales como la amapola, el eléboro

blanco y negro o el aloe, descritas en la Obra “*Materia Médica*” de Dioscórides en el 65 d.C aproximadamente (Prieto *et al.*, 2019).

El ser humano mantiene una estrecha relación con los recursos naturales; de éstos, las plantas siempre han sido uno de los recursos más importantes para el hombre, utilizadas principalmente por su disponibilidad, no sólo para la obtención de alimentos, ropa, utensilios de uso doméstico y materiales de construcción, sino también para curar y/o aliviar enfermedades y lesiones físicas (Maldonado *et al.*, 2020).

En todos los continentes existe un amplio registro de plantas medicinales, el primer libro publicado en América fue el “*Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*”, conocido más ampliamente como el *Códice de la Cruz – Badiano*, elaborado en 1552. Este libro sobre hierbas medicinales de los indios fue elaborado en náhuatl por el indígena Martín de la Cruz y traducido al latín por su compañero Juan Badiano (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO], 2023).

2.1.2 Uso

En México, el uso de hierbas con propiedades curativas es muy antiguo y hasta nuestros días se ha convertido en una práctica común. Generalmente se utilizan las hojas o flores y esporádicamente el tallo y la raíz, consumiéndose de forma directa, en infusiones o en presentación homeopática (Instituto Nacional de Investigación Forestal [INIFAP], 2020).

Entre las diversas formas de utilización de estas plantas se encuentran su trituration para elaborar emplastos, la maceración en bebidas alcohólicas con fines tónicos, el cocimiento para realizar vaporizaciones, así como su preparación en té e infusiones. Distintas partes como raíces, cortezas, frutos, semillas, bulbos y cáscaras se emplean como remedios destinados a aliviar, curar o preservar la salud física, emocional, mental y espiritual, contribuyendo a mejorar la calidad de vida a un menor costo e incluso a favorecer una vida más prolongada. De acuerdo con la Secretaría de Salud, el 90% de la población mexicana ha optado por alguna de las 4,500 plantas medicinales de México por lo menos una vez en su vida. El país ocupa el segundo lugar a nivel mundial en este tipo de flora documentada (SEMARNAT, 2021).

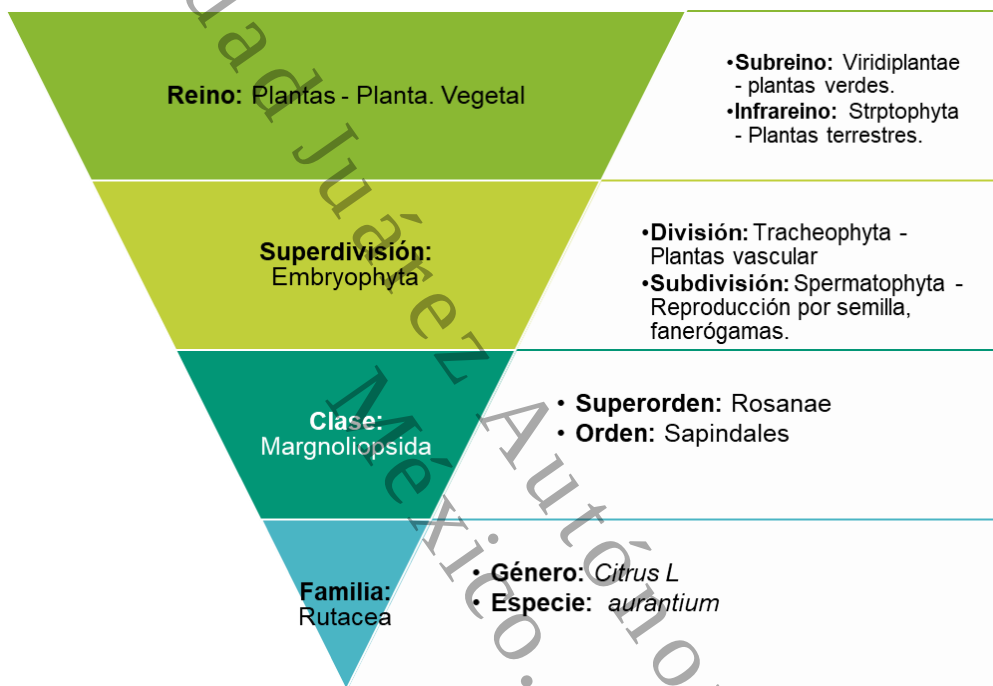
2.2 Naranja agria

2.2.1 Origen y distribución

La naranja agria (*Citrus aurantium*) tiene su origen en la región oriental de la India y zonas adyacentes, en Birmania y China. En la actualidad es cultivada en gran parte de zonas tropicales y templadas de todo el mundo (Valencia *et al.*, 2021).

2.2.2 Taxonomía y botánica

Figura 1. Clasificación taxonómica de *Citrus aurantium* L.



Nota La figura muestra la taxonomía y botánica de Citrus aurantium. Asociación Guatemalteca de Exportadores, (2020).

El *Citrus aurantium* L. o naranjo amargo (de la familia de los pomelos), es un árbol espinoso de mediano tamaño que puede alcanzar alrededor de 10 m de altura, muy ramificado (Valencia *et al.*, 2021). Tiene hojas de 7 – 10 mm, alternas, anchamente elípticas o lanceoladas, coriáceas, enteras, lustrosas, con el pecíolo articulado en el limbo y ensanchado laterales en 2 alas con forma de corazón, tal cual como se observa en la Figura 2.

Figura 2. Hoja de naranja agria (*Citrus aurantium*)



Nota. Hojas simples, alternas y de forma elíptica o en forma de lanza, su color es verde oscuro con brillo, imagen tomada por Galberto, (2019)

En la Figura 3, se observan las flores que tienen 2 cm de diámetro, actinomorfas, hermafroditas, pentámeras, blancas, fragantes (“azahar”), se encuentran solitarias o en pequeños grupos axilares, con un número de piezas que puede variar; estambres 10 o más, unidos en grupos (Camba Ramírez *et al.*, 2022).

Figura 3. Flor de *Citrus aurantium*



Nota Flores grandes, blancas, solitarias o en grupos pequeños. Tienen forma de estrellas, con 5 pétalos carnosos, imagen tomada por Maminat, (2023)

El fruto hesperidio (Figura 4), “naranja”, tiene de 7 – 8 cm de diámetro, subgloboso, achatado, piel gruesa y rugosa, de color anaranjado y sabor amargo y agrio. La cáscara es de color amarillo tirando a anaranjado cuando maduran (Camba Ramírez *et al.*, 2022).

Figura 4. Fruto de naranja agria



Nota El fruto de naranja agria tiene forma globosa, cáscara gruesa, rugosa, color de amarillo al madurar, por dentro posee una pulpa carnososa y agria, imagen tomada de Galberto, (2019)

2.2.3 Composición química

El Centro Nacional de la Medicina Popular Tradicional de Nicaragua (2019) (con sus siglas en inglés FCNMPT) realizó diversos análisis para saber la composición química de este fruto, ellos mencionaron que la cáscara contiene flavonoides heterósidos con un sabor amargo como, por ejemplo, neohesperidina y naringina. El responsable del sabor amargo de este fruto es la porción glucídica.

De igual manera la cáscara contiene flavonoides no amargos como hesperidina, rutósidos y flavonoides lipófilos, muy metoxilados, como sinensetina, nobiletina y tangeretina, tienen 1 - 2% de aceite esencial con limoneno como componente principal. Además, la cáscara contiene una elevada cantidad de pectina y furocumarina (compuestos heterocíclicos aromáticos).

Por otro lado en el Formulario Nacional de Medicamentos de Cuba (2019) menciona que la esencia de las hojas de la naranja agria está compuesta por D – limoneno, linalol,

acetato de linalilo con geraniol, acetato de geranilo, contienen un alcaloide de sabor amargo y cantidades variables de sales minerales.

En cuanto a las hojas maduras el FCNMPT mencionó que contienen aceites esenciales, flavonoides como principios amargos, alcaloides (1-estaquidrina), taninos y triterpenos. Las flores de este árbol contienen del 0.2 al 0.5% de aceites esenciales constituidos principalmente por monoterpenos: acetato de linolilo, linalol, α -pineno, limoneno, nerol, geraniol, etc., y junto con ellos antranilato de metilo como componente característico, también contienen sustancias amargas y flavonoides.

2.2.4 Características bioactivas de las hojas de naranja agria

En 2021 Valencia *et al.*, realizó un tamizaje fitoquímico a las hojas de la naranja agria, en los solventes de extracción: agua y etanol, empleados a temperatura ambiente y caliente según el caso, en los resultados obtenidos se encontró que las hojas de naranja agria presentan compuestos fenólicos, entre ellos podemos mencionar la presencia de taninos, los cuales le proporcionan a las hojas las propiedades astringentes y antiinflamatorias. De igual manera, hay presencia de flavonoides, estos metabolitos se les atribuyen propiedades fundamentalmente antioxidantes y antimicrobianas.

Encontraron la presencia de aminoácidos, los cuales le proporciona su actividad terapéutica de antibiótico y fúngico, así también, hay presencia de antocianidinas, las cuales ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos.

Por otro lado, Villarreal-Ibarra *et al.*, (2023), realizaron un estudio cualitativo experimental sobre el potencial antioxidante de *Citrus aurantium* en Tabasco, México, en solvente de extracción: etanólico, empleando el 85% de las hojas secas de *C. aurantium* (CA) y realizaron el tamizaje fitoquímico, con posterior cuantificación del contenido de fenoles y flavonoides totales. Posteriormente se determinó la actividad antioxidante por el ensayo DPPH y toxicidad aguda con *Artemia salina*.

En el estudio fitoquímico encontraron que el extracto contiene alcaloides, flavonoides, cumarinas, quinonas y taninos. En la cromatografía de capa fina del extracto

hidroalcohólico demostraron la presencia de la naringina. Obtuvieron un contenido de contenido de fenoles totales del 69.42 ± 3.47 EAG/g MS, en cuanto a flavonoides totales se obtuvo de 14.78 ± 0.28 EQ/g MS. Contiene una actividad antioxidante de $9240 \pm \text{nmol TEAC/g MS}$ y el ensayo de toxicidad aguda demostró una toxicidad moderada.

2.2.5 Propiedades medicinales

De acuerdo con Aguilar (2020) las hojas de naranja agria han sido empleadas tradicionalmente para elaborar infusiones por sus propiedades antiespasmódicas ya que disminuye los niveles de ansiedad, además de que se pueden tratar cólicos estomacales, diarreas e incluso el cambio de temperatura en niños y adultos.

La principal característica de esta infusión es que tiene un efecto relajante ya que ayuda al sistema nervioso, por lo que se emplea para tranquilizar, disminuir los efectos del estrés y ansiedad (dolor de cabeza) e incluso disminuye la taquicardia y mejorar los síntomas de la epilepsia, de igual manera es un auxiliar para conciliar el sueño, esto debido a sus propiedades relajantes que ayudan a combatir el insomnio, todo esto es respaldado por un grupo de expertos del Centro Médico Universitario de Creighton, en Texas, EEUU (Montagu, 2022).

Es utilizado para disminuir la fiebre y mejorar los síntomas de la gripa, dolor de garganta, congestión, tos y flemas, ya que el poder antioxidante que contienen las hojas fortalece el sistema inmunológico. En la medicina tradicional china se usa para tratar problemas de indigestión, flatulencias, diarrea, disentería y estreñimiento, pero también se emplea para tratar la pérdida de apetito.

Algunos estudios señalan que puede usarse en el control de peso, previniendo la obesidad. En las italianas Universidades de Catania y de Roma se estudió a la naranja agria y concluyeron que “se podría sugerir que los compuestos activos contenidos en la naranja agria tienen un efecto sinérgico sobre la acumulación de grasa en humanos y su extracto puede usarse en el control de peso y en la prevención de la obesidad humana”. Con estas investigaciones se señala que el consumo aumenta la descomposición de grasa, el gasto de energía y suprime ligeramente el apetito, por lo que contribuye a la pérdida de peso y debido

a su alto contenido de vitamina C es utilizada para la cicatrización de heridas y la formación de colágeno (Montagu, 2022).

2.2.6 Usos y aplicaciones

Existen estudios epidemiológicos que muestran que el consumo de regular de té está asociado con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares y reducción de factores de riesgo como el colesterol y la presión arterial. De igual manera se presenta una actividad antioxidante y de reducción del estrés oxidativo, el té neutraliza radicales libres, reduciendo daño celular y contribuyen a la prevención de enfermedades crónicas (Alemu *et al.*, 2025)

En cuanto a su uso en alimentos funcionales y productos nutricionales, los extractos de té se están incorporando en los alimentos por su valor nutricional y sus efectos terapéuticos, además de su aroma y sabor (Bhattacharya & Jagannath Lakade, 2025). Los extractos de té, especialmente de té verde, se están estudiando para su uso en productos para la piel debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Huang & Xu, 2025).

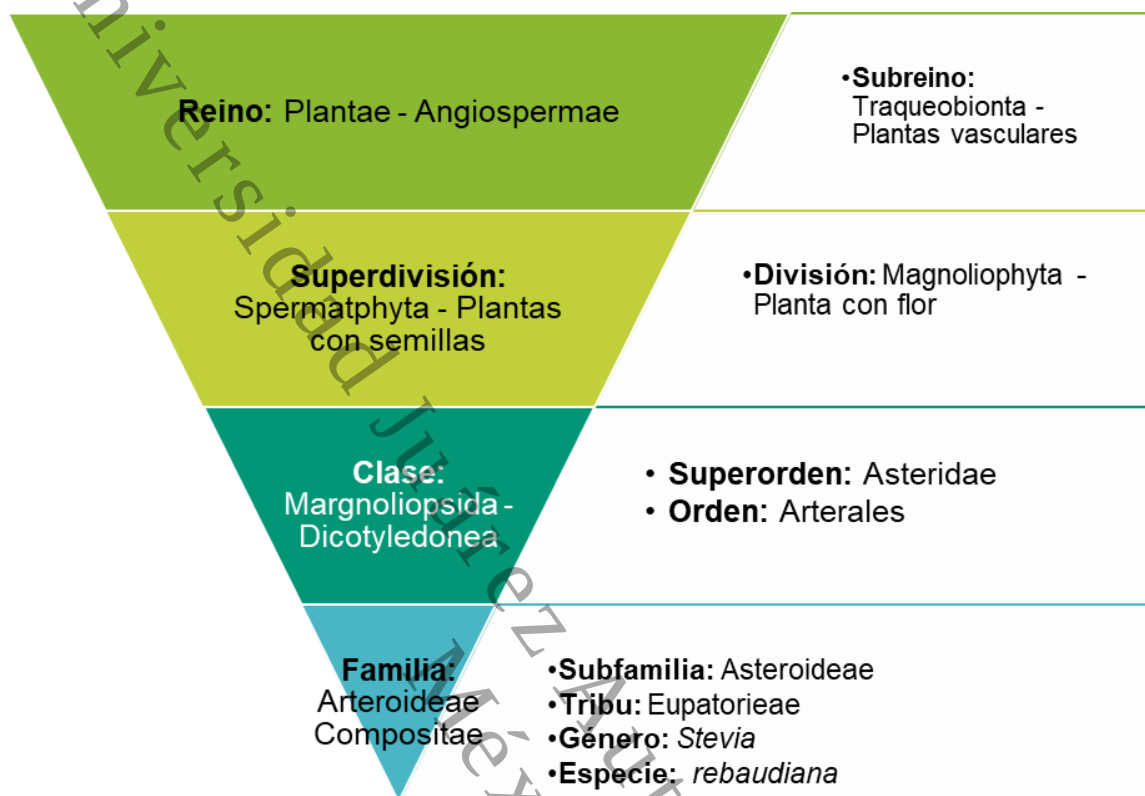
2.3 Stevia

2.3.1 Origen y distribución

La Stevia es una planta nativa del valle del río Monday en las llanuras del Paraguay. Los indios guaraníes la utilizaban desde tiempos precolombinos para endulzar sus comidas y bebidas y la llamaba “Ka’a-hée”, que significa “hierba dulce”. Fue introducida a Europa en 1887, descrita y clasificada en 1889 por el botánico suizo Moisés Santiago Vert. (1857 – 1929). El doctor Bertoni le asignó el nombre científico de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Existen más de 154 miembros del género Stevia en la selva Paraguay-Brasileira, pero *S. rebaudiana* es la única especie con propiedades endulzantes gracias a los compuestos que coloquialmente se les llama “esteviósidos” (Horacio *et al.*, 2017).

2.3.2 Taxonomía y botánica

Figura 5. Clasificación taxonómica de *Stevia rebaudiana*.



Nota La figura muestra la taxonomía y botánica de la Stevia rebaudiana. Basilio, (2015)

Esta planta tiene un tallo erecto, raíz pivotante y filiforme, hojas (Figura 6) son elípticas ovales o lanceoladas de sabor dulce con aproximadamente 5 cm longitud y 2 cm de ancho, las cuales presentan disposición opuesta en sus estados juveniles y alternos cuando las plantas llegan a su madurez (Arellano, L., 2021)

Figura 6. Hojas de la *Stevia*



Nota Arbusto perenne, hojas color verde oscuro, simples, alternas, dentadas, lanceoladas o elípticas, imagen tomada de (Mendoza, P. 2021)

Sus flores son hermafroditas, pequeñas, blanquecinas y uniformes morfológicamente (Figura 7), sus corolas son tubulares y sus capítulos son pequeños terminales o axilares en panículas corimbosas (Arellano, L., 2021)

Figura 7. Flor y hoja de la *Stevia*



Nota La flor de *Stevia* es un componente importante de la planta. Florece durante los meses de primavera y verano, las flores al ser polinizadas permiten que la planta se reproduzca, imagen tomada por Liaudat, (2021)

El fruto de esta planta es un aquenio que puede ser claro (estéril) u oscuro (fértil) el cual se disemina por el viento (Arellano, L., 2021)

2.3.3 Composición química

Las hojas de *Stevia* contienen varios compuestos que son conocidos como glucósidos de esteviol, los cuales no son calóricos y presentan un alto poder edulcorante. Se conocen al menos quince glucósidos de esteviol de los cuales el esteviósido y el rebaudiósido A, son los más importantes. El esteviosido es 143 veces más dulce que el azúcar, mientras que el rebaudiósido A es 242 veces más dulce. Además de estos compuestos la stevia contiene otros que presentan actividad biológica incluyendo los flavonoides, ácido quínico y cafeico y sus derivados, sesquiterpénoides, oligosacáridos y retinoides (Horacio *et al.*, 2017).

2.3.4 Características bioactivas

En 2012 Shukla *et al.*, examinaron la actividad antioxidante relativa del extracto acuoso de la hoja de *Stevia rebaudiana* a través de varios modelos *in vitro*. La actividad DPPH del extracto acuoso se reportó en un rango de 40 a 72.37% en comparación con el ácido ascórbico de 64.26 a 82.58%. Los valores de IC₅₀ del extracto acuoso y del ácido ascórbico en el ensayo de eliminación de radicales DPPH fueron de 83.45 y 26.75 g/mL, respectivamente. Por otro lado, también inhibieron el radical hidroxilo, el óxido nítrico y los aniones superóxido con valores IC₅₀ de 100.86; 98.73 y 100.86 g/mL, respectivamente. La mayor cantidad de compuestos fenólicos produce efectos más potentes de eliminación de radicales, como demuestra el extracto acuoso de la hoja de *S. rebaudiana*.

Con respecto al potencial antidiabético Zaidan *et al.*, (2019) evaluaron los efectos de los disolventes en la extracción de compuestos fenólicos e identificaron los glicósidos de esteviol asociados al potencial antidiabéticos de los extractos, cuantificando así el contenido total de fenoles (TPC) y flavonoides (TFC) de los extractos, mientras que para la actividad antidiabética de los extractos se realizaron mediante ensayos de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa. Encontraron que el TFC estaba presente en la concentración más alta en el extracto de etanol (10,91 mg QE/g), mientras que la presencia de TPC no mostró diferencias significativas entre el extracto de agua (6,65 mg GAE/g) y otros disolventes orgánicos.

En relación con el potencial antidiabético, el extracto acuoso mostró la actividad inhibidora de la α -amilasa más significativa, con una IC₅₀=8,63 μ g/mL, comparable a la con

el medicamento acarbosa $IC_{50}=13,73 \mu\text{g/mL}$. Los resultados demostraron que la recuperación fenólica dependía en gran medida del disolvente de extracción y que el prometedor extracto acuoso presentaba el mejor potencial inhibidor de la α -amilasa con la mayor recuperación de glicósidos de esteviol.

Estudios más recientes, mencionan que debido a su composición química a la *Stevia rebaudiana* se le atribuyen diversas propiedades que tienen un impacto en la salud. El uso más conocido es el ser sustituto de la sacarosa, evitando la formación de caries y enfermedades como la obesidad y la diabetes tipo 2, dicha propiedad se debe a sus componentes esteviosidos y rebaudiósidos los cuales son los responsables de su dulzor. Los aceites esenciales de la *Stevia* contienen carvacrol, coriofileno, óxido de cariofileno, espatulenol, cardinol, α -pineno, limoneno, isopinocarveol e ibuprofeno, siendo estos los responsables de que esta planta tenga propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas. Se ha encontrado que esta planta también es rica en hierro, magnesio y cobalto, no contiene cafeína y posee efectos antioxidantes debido a la presencia de ácidos fenólicos en su estructura (Arellano, L., 2021).

2.3.5 Uso tradicional

Las hojas de *Stevia* se utilizan como agente edulcorante en general. En años recientes, la hoja de la *Stevia* se ha consumido preparada en tés para pacientes diabéticos con el fin de reducir los niveles de glucosa en la sangre en pacientes con diabetes tipo II, protegen contra el daño renal y hepático, además de presentar efectos terapéuticos contra diversas enfermedades como el cáncer, hipertensión, la obesidad y la caída de dientes (Instituto Nacional de Investigación Forestal [INFA], 2020).

2.4 Tés

El té es un tipo de infusión de la planta *Camellia sinensis* (Figura 8), sin embargo, en la cultura popular se conoce a las infusiones de plantas aromáticas o medicinales como té. Una infusión es una bebida generalmente elaborada a partir de las partes aéreas de diversas plantas y de fácil preparación. Suelen presentar un sabor agradable, junto a esto, proporcionan beneficios a la salud como antiinflamatorio, antioxidante, antimicrobiano, entre

otros (Taco & Morales, 2023). Del total de té producido y consumido en el mundo, el 78% es negro y el 20% es verde (Puig Moliner *et al.*, 2020).

Figura 8. *Camellia sinensis*



Nota. Imagen tomada del Instituto de Ecología A.C, (2023)

2.4.1 Origen y distribución

El té forma parte de la humanidad desde tiempos inmemoriales y su origen se remonta a miles de años atrás. Existen numerosas teorías acerca de su origen y trayectoria, aunque entre los historiadores y expertos no cabe duda de que su origen se encuentra en Asia. Algunas leyendas sobre el origen del té y su historia han sido transmitidas de generación a generación hasta nuestros días. Según la leyenda china, el té fue descubierto en el año 2737 a.C. por el emperador Shen Nong con el fin de prevenir enfermedades entre su pueblo (Escalaes & Massot, 2019).

La llegada del té a Occidente se debe a Vasco de Gama, que estableció a finales del siglo XV la ruta marítima con Oriente, siendo los primeros exportadores los holandeses y portugueses, exportando el té desde China, teniendo así un absoluto éxito social. El té se comercializaba a través de la ciudad de New York, la cual fue fundada por los holandeses. Actualmente los principales países importadores de té son: Países Árabes (26%), Rusia (15%), Reino Unido (15%), Pakistán (9%), Egipto (5%), Japón (5%) (Escalaes & Massot, 2019).

2.4.2 Legislación mexicana

En el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios, en el Título Décimo Segundo, Capítulo III “Té o infusiones”, en el Artículo 129 se menciona que se permitirán las mezclas de plantas o partes de ellas, siempre y cuando no representen riesgos para la salud.

Para la comercialización del té, nos menciona que el etiquetado debe contener la información referente a este y no debe contener información que confunda, exagere o engañe en cuanto a sus efectos, composición, origen y otras propiedades del producto, ni ostentar indicaciones rehabilitadoras o terapéuticas, de igual manera no deberá emplearse denominaciones en las que se expresen clara o veladamente indicaciones en relación con enfermedades, síntomas o síndromes, o que recuerden datos anatómicos o fenómenos fisiológicos (Diario Oficial de la Federación, 2016).

2.4.3 Características bioactivas

El té posee compuestos químicos que contribuyen a aportar al organismo nutrientes y propiedades beneficiosas para la salud, siendo estos ricos en minerales, como flúor, conocido por proteger los dientes, además de contener sodio, potasio y níquel, hierro, cobre, silicio, aluminio, magnesio, fósforo y calcio (Escales & Massot, 2019).

La sabiduría popular atribuye al té diversos beneficios para la salud. La infusión de las hojas frescas de té extrae un 60% del producto soluble que nos encontramos en la taza y se compone de: polifenoles, específicamente abundan los flavonoides, los cuales pertenecen a un tipo de sustancia conocida como catequinas. Las cuatro principales catequinas del té son: epicatequina (EC), epicatequina galato (ECG), epigallocatequina (EGC) y epigallocatequina galato (EGCG), también se presentan los taninos, los cuales son responsables de la astringencia y del sabor amargo. (Safaya, 2021).

Los té elaborados a partir de *Camellia sinensis* (té verde, negro, blanco y oolong) contiene principalmente tres metilxantinas: cafeína, teobromina y teofilina. La concentración de estas metilxantinas puede variar ampliamente dependiendo del grado de fermentación, origen geográfico, edad de la hoja y método de procesamiento. Estudios recientes en té verde

han confirmado que la cafeína sigue siendo la metilxantina predominante (5.56 mg/g), mientras que la teobromina (0.41 mg/g) y la teofilina (0.025 mg/g) aparecen en concentraciones menores (Jakabová *et al.*, 2024).

2.4.4 Secado o fijación de hojas

El secado, además de poder utilizarse como método para detener la oxidación, reduce la hidratación de la hoja de té a través de unas condiciones de temperatura controladas. Salas & Basilios (2022) menciona que la deshidratación de limón persa secado por bandeja se puede realizar en un rango de temperatura de 60, 70 y 80°C, ya que estas temperaturas prevalecen sus valores de composición nutricional.

Con este método de secado la hoja de té se estabiliza, impidiendo la oxidación que se pueda producir de manera natural a lo largo del tiempo u otras reacciones químicas posibles no se lleven a cabo una vez obtenido el producto elaborado. Como se ha comentado anteriormente, los métodos pueden ser diversos, pero se puede utilizar desde el calor del sol hasta secadores comerciales (Safaya, 2021).

III. JUSTIFICACIÓN

El uso de plantas medicinales como tratamiento alternativo es una práctica que ha aumentado significativamente. Cerca del 80% de la población mundial emplean plantas medicinales para la cura y/o tratamiento de sus enfermedades, debido a que su uso resulta ser más económico, de fácil acceso y disponibilidad (De la Cruz-Castillo & Mostacero-León, 2019).

En la búsqueda constante por alternativas saludables y funcionales en la dieta, la infusión de hojas de naranja agria (*Citrus aurantium*) endulzado con Stevia (*Stevia rebaudiana*) emerge como una combinación prometedora que merece atención académica y científica.

La combinación de estos dos ingredientes en la infusión plantea preguntas cruciales sobre sus interacciones fisicoquímicas y bioactivas. En particular, es necesario comprender cómo la adición de Stevia afecta la estabilidad de los compuestos fenoles y flavonoides presentes en las hojas de naranja agria, y cómo esto, a su vez, influye en las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de la bebida resultante. Los resultados obtenidos podrán contribuir a una mejor comprensión de cómo la Stevia afecta las propiedades de la infusión y cómo estas propiedades se relacionan con los beneficios para la salud.

De igual manera, con el aumento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo y la inflamación, las bebidas que ofrecen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias son de gran interés. Evaluar la infusión de hojas de naranja agria endulzado con Stevia puede ofrecer nuevas alternativas para la prevención y manejo de estas condiciones. Además, la investigación debe abordar cómo estas propiedades se traducen en beneficios potenciales para la salud, considerando el perfil sensorial y la aceptación del producto final por los consumidores.

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Cuál es el efecto de la adición de Stevia sobre la estabilidad y la concentración de flavonoides y otros compuestos activos en la infusión de hojas de naranja agria?
2. ¿Qué impacto tiene la Stevia en las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de la infusión?
3. ¿Cuál es la aceptación sensorial y la viabilidad de la infusión de hojas de naranja agria endulzado con Stevia en el mercado de bebidas funcionales?

V. HIPÓTESIS

La adición de *Stevia rebaudiana* a la infusión de hojas de *Citrus aurantium* incrementa la concentración de compuestos fenólicos y flavonoides, potenciando la actividad antioxidante y manteniendo o mejorando las propiedades antiinflamatorias y antidiabéticas de la bebida sin comprometer su seguridad ni aceptabilidad sensorial.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar las propiedades fisicoquímicas y bioactivas a base de hojas de naranja agria (*Citrus aurantium*) endulzado con hojas de Stevia, con el fin de determinar su potencial como bebida funcional natural.

6.2 Objetivos específicos

- Determinar el contenido de compuestos polifenólicos totales, flavonoides y ácido clorogénico presentes en el té endulzado con Stevia y sin Stevia y su efecto antioxidante, antiinflamatorio, antidiabético y hemolítico mediante técnicas *in vitro*.
- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas del té endulzado con Stevia y sin Stevia mediante la determinación de parámetros como pH, acidez titulable y color.
- Evaluar la aceptación sensorial del color, olor y sabor del té usando escala hedónica de nueve puntos.

VII. METODOLOGÍA

7.1 Área de estudio y muestreo

Las hojas de naranja agria (*Citrus aurantium*) se recolectaron en la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA), en el municipio de Centro, Tabasco. Para la selección de las hojas se siguieron los siguientes criterios de apariencia: sin manchas, sin insectos y de un color verde brillante. Por otro lado, las hojas de Stevia se obtuvieron de un supermercado de la ciudad de Villahermosa Tabasco. El procesamiento y el estudio de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, ubicada en el Km. 25. Carretera Villahermosa – Teapa.

7.2 Proceso de la muestra

7.2.1 Hojas de naranja agria

Las hojas de naranja agria se lavaron eliminando todas las impurezas, se extendieron en charolas y se dejó durante 2 h a una temperatura de 60°C en un secador de bandeja.

Una vez secas, las hojas se molieron en un molino marca Hamilton Beach hasta reducir su tamaño. Una vez molidas las hojas se procedió a tamizar con un número de malla de 60 y 100 mm de abertura.

7.2.2 Preparación de infusiones

Se realizaron nueve tratamientos en total, diferenciados en tres grupos: uno con la adición de Stevia (infusión con Stevia) y otro sin la adición de Stevia (infusión sin Stevia) y Stevia sin la hoja de naranja agria, cada uno se evaluó a cuatro niveles de concentración de hojas de naranja agria (250, 500 750 y 1000 mg/mL). En todos los tratamientos con Stevia, la concentración se mantuvo constante en 0.020 mg/mL, todo esto se disolvió en agua a una temperatura de 100°C dejándose reposar 10 min para obtener la mayor extracción de los compuestos bioactivos.

Tabla 1. Elaboración de extractos.

Tratamientos		Hojas de naranja Agria	Hojas de Stevia	Re suspendido
Infusión combinada (Hoja de naranja agria y Stevia)	T1	250 mg	0.02 mg	50 mL
	T2	500 mg	0.02 mg	50 mL
	T3	750 mg	0.02 mg	50 mL
	T4	1000 mg	0.02 mg	50 mL
Infusión de hojas de naranja agria	T5	250 mg	---	50 mL
	T6	500 mg	---	50 mL
	T7	750 mg	---	50 mL
	T8	1000 mg	---	50 mL
Infusión de hojas de Stevia	T9	---	0.02 mg	50 mL

Nota. Esta tabla muestra cómo se dividen nuestros tratamientos, de acuerdo con las concentraciones empleadas. Elaboración propia

7.3 Cuantificación de polifenoles totales

La cuantificación de los polifenoles totales se realizó de acuerdo con el método descrito por Stintzing *et al.* (2005), utilizando el reactivo Folin – Ciocalteu. A 100 μ L de extracto, se le adicionaron 100 μ L de solución Folin-ciocalteu (1:10 en agua destilada) y 100 μ L de solución de carbonato de sodio (7.5%); Posteriormente, las muestras se agitaron e incubaron a temperatura ambiente durante 30 min. Transcurrido el tiempo, se efectuaron las mediciones de absorbancia a 790 nm en un espectrofotómetro UV-VIS VELAB.

La concentración de polifenoles totales se expresó en mg equivalentes de ácido gálico (AGE)/g de base seca, empleando una curva de calibración de ácido gálico de 0 a 400mg/L, (López Nahuatt *et al.*, 2020).

7.4 Determinación de Flavonoides

El contenido de flavonoides se evaluó mediante el método descrito por Zhishen *et al.* (1999), siguiendo un ensayo colorimétrico basado en tricloruro de aluminio ($AlCl_3$). A 125 μ L de muestra se añadieron 37.5 μ L de $NaNO_3$ (5%); tras 6 min se agregaron 37.5 μ L de una solución de $AlCl_3$ al 10 %, 500 μ L de NaOH (4%) y 500 μ L de agua destilada, posteriormente, las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min. El

contenido de flavonoides se expresó en equivalentes de catequina, para lo cual se realizó una curva de calibrado de 0 a 250 mg/L. La absorbancia se midió a 510 nm en un espectrofotómetro VELAB (Zhishen *et al.*, 1999).

7.5 Determinación del contenido de ácido clorogénico

El contenido de ácido clorogénico se determinó colorimétricamente de acuerdo con el método propuesto por Griffiths *et al.* (1992). Para ello, 200 µL de muestra se mezclaron con 200 µL de solución urea (0.17M) y 200 µL de solución de ácido acético (0.10 M), agitándose la mezcla durante 15 s. Posteriormente, se añadieron 200 µL de solución de nitrito de sodio (0.14 M) y se incubó a temperatura ambiente durante 2 min. Después, se agregaron 200 µL de solución de hidróxido de sodio (0.5 M). Las lecturas de las absorbancias se realizaron a 510 nm en un espectrofotómetro UV-VIS VELAB.

La concentración se calculó a partir de una curva estándar de ácido clorogénico (0 a 250 mg/L), expresando los resultados como mg equivalentes de ácido clorogénico/g de muestra seca (Díaz *et al.*, 2018).

7.6 Determinación de DPPH

La capacidad antioxidante mediante la técnica de DPPH se evaluó de acuerdo con Morales y Jiménez-Pérez (2001). Se preparó una solución de DPPH una concentración de 0.1 mM en metanol, la cual se agitó durante 10 minutos. Posteriormente, se colocaron 50 µL de muestra en tubos de ensayo y se adicionaron 950 µL de solución de DPPH; la mezcla se agitó vigorosamente y se dejó reaccionar a temperatura ambiente (38°C) durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo, la absorbancia se midió al 517 nm en un espectrofotómetro VELAB UV-VIS, (López Nahuatt *et al.*, 2020).

7.7 Determinación de contenido de taninos totales

El contenido de taninos se realizó mediante el método de la vainillina-HCl, lo cual consistió en mezclar 100 µL de muestra con 200 µL de reactivo vainillina-HCl (preparados en partes iguales: 8% de HCl y 1 % de vainillina). La mezcla se incubó durante 20 min a 25°C protegida de la luz. Finalmente, la absorbancia se midió a 500 nm en el espectrofotómetro

UV – VIS VELAB. Los taninos se expresaron en equivalente catequina (mg EC/g ms) (Choi *et al.*, 2023).

7.8 Determinación de ABTS

La capacidad de atrapamiento del catión estable ABTS se determinó siguiendo la metodología propuesta por Re & Kuskoki *et al.* (2005). A 50 µL de muestra se adicionaron 990 µL de la dilución del radical ABTS, incubándose en ausencia de luz durante 5 a 10 min. Posteriormente, la absorbancia se registró a 734 nm en un espectrofotómetro UV-VIS VELAB. La capacidad de atrapamiento del radical libre ABTS se expresó en porcentaje de captura (López Nahuatt *et al.*, 2020), empleando la siguiente fórmula.

$$\%ABTS = \frac{(Abs\ muestra - Abs\ de\ control)}{Abs\ muestra} \times 100$$

Dónde:

Abs de control = es la absorbancia sin muestra

Abs de muestra = es la absorbancia del extracto de muestra/estándar.

7.9 Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

El poder antioxidante reductor férrico se determinó de acuerdo con la metodología descrita por (Muniandy *et al.*, 2016). Para ello, se mezclaron 520 µL de reactivo FRAP recién preparado (TPTZ, FeCl₃ y buffer fosfato en proporción 1:1:10, respectivamente) con 20 µL de muestra, incubándose la mezcla durante 15 min a 37 °C. Transcurrido el tiempo, la absorbancia se registró a 593 nm en un espectrofotómetro VELAB. Los resultados se reportaron en mM equivalentes de Trolox, empleando una curva de calibración con Trolox de 0 a 150 mM.

7.10 Determinación de azúcares totales por el método de fenol – sulfúrico.

El método fenol – sulfúrico continúa siendo empleado como técnica estándar para la cuantificación de carbohidratos, por ejemplo, Yue, *et al.*, (2022) señalaron que el método es uno de los más comunes en el análisis de contenido de azúcares en estudios de

polisacáridos, aunque advierten que la composición de monosacáridos puede afectar la respuesta y ser inferior al valor real si no se corrige adecuadamente. Aunque la Stevia no aporta azúcares fermentables convencionales (glucosa, fructosa o sacarosa), la cuantificación de azúcares totales permite verificar si hay azúcares residuales o liberados de las hojas, o posibles interacciones con otros componentes del té que puedan generar azúcares simples en el proceso de infusión o degradación.

La concentración de azúcares totales fue determinada empleando el método de fenol sulfúrico modificado según Dubois *et al.* (1956). Se preparó una curva de calibración de absorbancia frente a concentración con soluciones patrón de dextrosa anhidra en el intervalo de 10 a 70 mg/L. Como blanco para las lecturas se utilizó agua destilada, sometida al mismo tratamiento que las muestras. Para el método, se mezclaron 250 μ L de muestra con 250 μ L de fenol al 5 % en tubos digestores, colocándolos en una gradilla sumergida en baño de agua fría. A continuación, se adicionaron 1 mL de H₂SO₄ concentrado y la mezcla se llevó a ebullición durante 5 min. Transcurrido ese tiempo, se midió la absorbancia en un espectrofotómetro VELAB UV-VIS a 480 nm. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se utilizó el valor promedio para el cálculo de la concentración de azúcares totales (Ávila Núñez *et al.*, 2012).

7.11 Estimación del color

Se prepararon las muestras tal como se menciona en el apartado “7.2.2 Preparación de infusiones” preparación de la muestra. Posteriormente, la muestra se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró mediante papel filtro para eliminar partículas sólidas. El espectrofotómetro UV-Visible fue calibrado utilizando agua destilada como blanco (Bodor *et al.*, 2021).

La muestra filtrada se colocó en una cubeta de 1 cm de paso óptico y se midió la absorbancia a 560 nm. Cada muestra se analizó por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados. El color se expresó en milímetros Pfund (mm Pfund) utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{mm Pfund} = 38.70 + (371.39 \times A_{560})$$

Dónde:

A_{560} es la absorbancia medida a 560 nm.

7.12 Actividad antiinflamatoria *in vitro*

La mezcla de ensayo consistió en 750 μ L de suero de albúmina bovina (0.5%) en buffer (pH 6.4) y 200 μ L de muestra; se utilizó diclofenaco como control positivo y buffer como control negativo (pH 6.4). Las muestras fueron incubadas por 20 min a 37°C y por 5 min a 70°C, dejándose enfriar a temperatura ambiente. Se estimó la absorbancia en un espectrofotómetro VELAB UV-VIS a 660 nm y el porcentaje de inhibición de desnaturalización de la albúmina se calculó mediante la siguiente ecuación (García-Candela *et al.*, 2017).

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{Abs de Control} - \text{Abs de Muestra})}{(\text{Abs de Control})} \times 100$$

Dónde:

Abs de control = es la absorbancia sin muestra

Abs de muestra = es la absorbancia del extracto de muestra/estándar.

Se utilizó diclofenaco como control positivo.

7.13 Actividad hemolítica

La determinación de la actividad hemolítica se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por (Macías - Martínez, *et al.*, 2016). Se utilizó sangre humana (5 mL), obtenida por punción en la vena del brazo de adultos voluntarios sanos y no fumadores. La sangre se depositó en tubos heparinizados (COVIDEN Monoject, con 0.05 mL de EDTA al 15 %). El procedimiento consistió en añadir en cada tubo de ensayo la solución de Alsever, la muestra y el paquete de eritrocitos, evitando ocasionar daño celular. Posteriormente, la mezcla se incubó a 37 °C durante 60 min. Finalmente, los tubos se centrifugaron a 1200 rpm durante 4 min a temperatura ambiente y del sobrenadante se tomó 1 mL, procediéndose a leer la absorbancia en un espectrofotómetro VELAB UV-VIS a 415 nm. El análisis se realizó por triplicado para obtener valores promedio. La actividad hemolítica se expresó en porcentaje de acuerdo con (López Nahuatt *et al.*, 2020), empleando la siguiente fórmula;

$$\%hemolisis = \frac{Muestra - control\ negativo}{control\ positivo - control\ negativo} \times 100$$

Dónde:

Muestra= Absorbancia de la muestra

Control negativo= Absorbancia del control negativo

Control positivo= Absorbancia del control positivo

7.14 Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa

El ensayo para medir la inhibición de la actividad de la α -amilasa de los tés se realizó mediante la técnica de microplaca, adaptada de Adisakwattana *et al.* (2009). La enzima α -amilasa (páncreas de porcino, 3 U/mL) se disolvió en amortiguador de fosfatos salino 0.1 M (pH 6.9). Se adicionaron 200 μ L de los tés en una solución de almidón (1 g/L) y la reacción se inició con la adición de 500 μ L de la solución enzimática. La mezcla se incubó a 25 °C durante 10 min; después se añadieron 500 μ L de amortiguador de fosfatos 0.02 M (pH 6.9 con cloruro de sodio 6 mM). La mezcla de reacción se incubó nuevamente a 25 °C durante 10 min y se detuvo mediante la adición de 1 mL de una solución de ácido dinitrosalicílico al 1%, fenol al 0.2% y Na₂SO₃ al 0.05% en NaOH al 1%. Posteriormente, la mezcla se incubó a 90 °C durante 5 min y se enfrió a 25 °C. La solución resultante se diluyó con 10 mL de agua destilada y se determinó la absorbancia a 540 nm. La muestra control consistió en 200 μ L de amortiguador de fosfatos pH 6.9, en lugar de los tés. Finalmente, se empleó una solución de 0.44 mg/mL de acarbosa como inhibidor positivo (López-Martínez *et al.*, 2014)

El porcentaje de inhibición de la actividad enzimática fue calculada por:

$$\% Inhibición = \left[\left(\frac{\Delta Abs_{control} - \Delta Abs_{muestra}}{\Delta Abs_{control}} \right) \right] \times 100$$

Dónde:

$\Delta Abs_{control}$: Cambios en la absorbancia del control

$\Delta Abs_{muestra}$: Cambios en la absorbancia de la muestra

7.15 Determinación de acidez titulable

La determinación de la acidez titulable consistió en transferir 10 mL de muestra en un matraz, a temperatura ambiente, y adicionar 100 mL de agua destilada junto con cuatro gotas de fenolftaleína al 0.1% en etanol. Posteriormente, se tituló la muestra con una solución estandarizada de NaOH de concentración de 0.01 N, hasta el vire del indicador (Mex-Álvarez *et al.*, 2022).

$$\%Acidez = \frac{V \times N \times meq}{m} \times 100$$

Dónde:

V: Volumen de NaOH gastado en la solución

N: Normalidad del NaOH

Meq: Peso miliequivalente del ácido predominante.

7.16 Determinación de pH

Para la determinación del pH, se añadieron 10 mL de muestra y 25 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 50 mL. La mezcla se agitó durante 1 min y posteriormente se introdujo el electrodo del potenciómetro de sobremesa HANNA con resolución de 0.01 pH – HI2210, registrando el valor de pH (Mex-Álvarez *et al.*, 2022).

7.17 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial del té se realizó mediante una prueba hedónica de nueve puntos para determinar su aceptabilidad. El análisis fue llevado a cabo con un panel de 85 jueces no entrenados, considerados consumidores potenciales, quienes evaluaron las características de sabor, olor, color y apariencia del té, de ambas infusiones en las diferentes concentraciones. Los resultados permitieron comprobar el nivel de aceptación de la infusión (Montero, 2020).

7.18 Análisis de datos y estadístico

El experimento se estableció para un diseño completamente azar, con arreglo factorial 2x4, donde el factor A, corresponde a los tratamientos con y sin Stevia, el factor B, a las concentraciones de hoja de naranja agria (250, 500, 750 y 1000 mg). Cada tratamiento de desarrollo por triplicado y se presentan como media $\pm$ desviación estándar.

Los datos de cada tratamiento (T1 – T8) se analizaron mediante análisis de la varianza de dos vías para determinar el efecto de la concentración, la presencia del Stevia y su respectiva interacción ($p \leq 0.05$) y las diferencias estadísticas se realizaron mediante la técnica de Tukey ($p \leq 0.05$). Mientras que el T9, se considero como uno independiente y fue utilizado como referencia para la comparación de resultados, ya que no es parte del arreglo de los factores. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software GraphPad Prism 8.0.

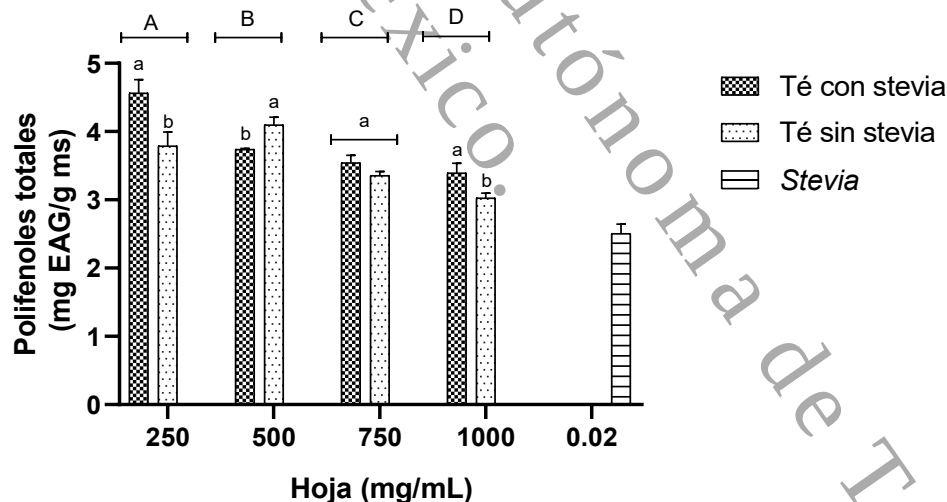
VIII. RESULTADOS

8.1 Cuantificación de polifenoles totales

En la Figura 9, se muestran las concentraciones de polifenoles totales en las infusiones de hojas de naranja agria con y sin Stevia, así como el contenido correspondiente a la Stevia. En términos generales, ambas formulaciones estudiadas, presentaron valores elevados de polifenoles totales en todas las concentraciones estudiadas, con un comportamiento dependiente de la concentración.

A 250 mg/mL, la infusión con Stevia mostró el mayor contenido fenólico (4.8 mg EAG/g ms), significativamente superior ($p < 0.05$) a la infusión sin Stevia (3.8 mg EAG/g ms). A 500 mg/mL se observó una tendencia inversa: la infusión sin Stevia alcanzó un valor ligeramente mayor (4.1 mg EAG/g ms) que la infusión con Stevia (3.6 mg EAG/g ms), diferencia que también fue estadísticamente significativa.

Figura 9. Contenido Fenólico total en extractos acuosos de té de naranja agria con Stevia y sin Stevia y de Stevia sola



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

En la concentración intermedia de 750 mg/mL, no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos, lo que sugiere que en este punto la adición de Stevia no ejerce un efecto modulador relevante sobre el contenido fenólico total.

Sin embargo, a 1000 mg/mL la infusión con Stevia presentó nuevamente un contenido significativamente mayor (3.4 mg EAG/g ms) en comparación con la infusión sin Stevia (3.0 mg EAG/g ms).

Al analizar la tendencia de los resultados, se observa que el contenido de polifenoles totales tiende a disminuir conforme aumenta la concentración de hoja utilizada, particularmente en la formulación con Stevia. Este comportamiento podría atribuirse a la saturación del extracto o a la interacción entre compuestos fenólicos y otros componentes de nuestra matriz vegetal, limitando su extracción a mayores concentraciones.

En contraste, con la Stevia sola (0.02 mg/mL), presentó un contenido fenólico considerablemente menos (2.5 mg EAG/g ms) en comparación con todas las formulaciones de las infusiones de naranja agria, mostrando diferencias significativas respecto a los tratamientos evaluados. Este resultado indica que, aunque la Stevia aporta compuestos fenólicos, su contribución individual es inferior a la observada en las infusiones de hojas de naranja agria, por lo que el contenido total de polifenoles en las mezclas se atribuye principalmente a la materia prima base.

Lo anterior indica que la adición de Stevia puede modificar el contenido de polifenoles totales dependiendo de la concentración empleada, mostrando efectos variables pero generalmente favorables en concentraciones 250 y 1000 mg/mL. No obstante, la hoja de naranja agria constituye la principal fuente de compuestos fenólicos en las formulaciones evaluadas.

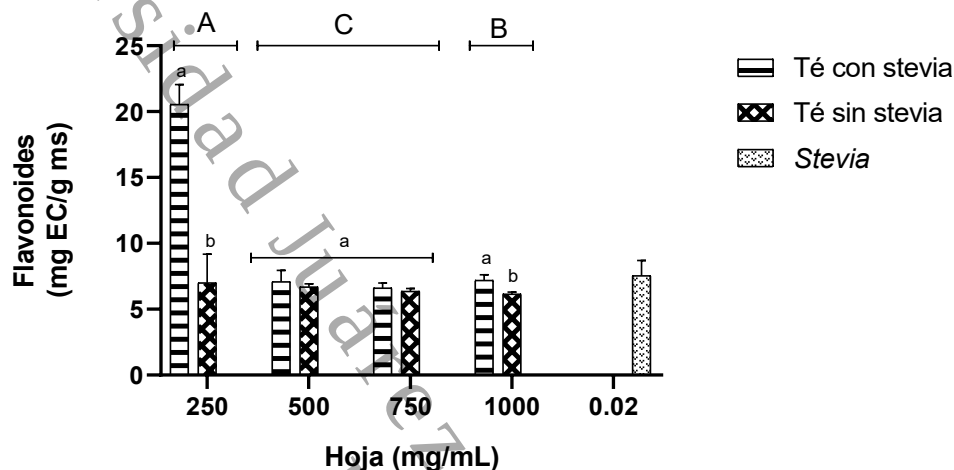
8.2 Determinación de flavonoides

Los resultados observados en la Figura 10, nos muestran que en la concentración de 250 mg/mL de la infusión con Stevia presentó el valor más alto de flavonoides (23 mg EC/g ms), significativamente superior al de la infusión sin Stevia (7.5 mg EC/g ms). Esta diferencia marcada sugiere una mayor eficiencia en la extracción de flavonoides en presencia de Stevia a bajas concentraciones de hoja.

En las concentraciones intermedias de 500 y 700 mg/mL, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambas formulaciones, con valores promedio

cercanos a 6 – 7 mg EC/g ms. En estos puntos, el contenido de flavonoides se mantuvo relativamente estable, lo que indica que la adición de Stevia no modificó de manera relevante la concentración de estos compuestos bajo dichas condiciones.

Figura 10. Contenido Flavonoides total en extractos acuosos de té de naranja agria con Stevia y sin Stevia y de Stevia sola



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

A 1000 mg/mL se detectó nuevamente una diferencia significativa, donde la infusión con Stevia (7 mg EC/g ms) mostró un contenido ligeramente mayor que la infusión sin Stevia (6 mg EC/g ms). Aunque la diferencia fue menor que la observada a 250 mg/mL, el resultado confirma que la formulación puede influir en la disponibilidad o cuantificación de flavonoides en concentraciones elevadas.

En cuanto al tratamiento de la Stevia sola, esta presentó un contenido de flavonoides de aproximadamente 7 – 8 mg EC/g ms, valor comparable al observado en las infusiones de naranja agria en concentraciones de 500, 750 y 1000 mg/mL, pero considerablemente inferior al registrado para la infusión con Stevia a 250 mg/mL. Este resultado indica que la Stevia posee compuestos flavonoides propios; sin embargo, el elevado contenido observado en la mezcla a 250 mg/mL no puede atribuirse únicamente a su aporte individual, lo que se sugiere una posible interacción entre los metabolitos secundarios de ambas matrices vegetales.

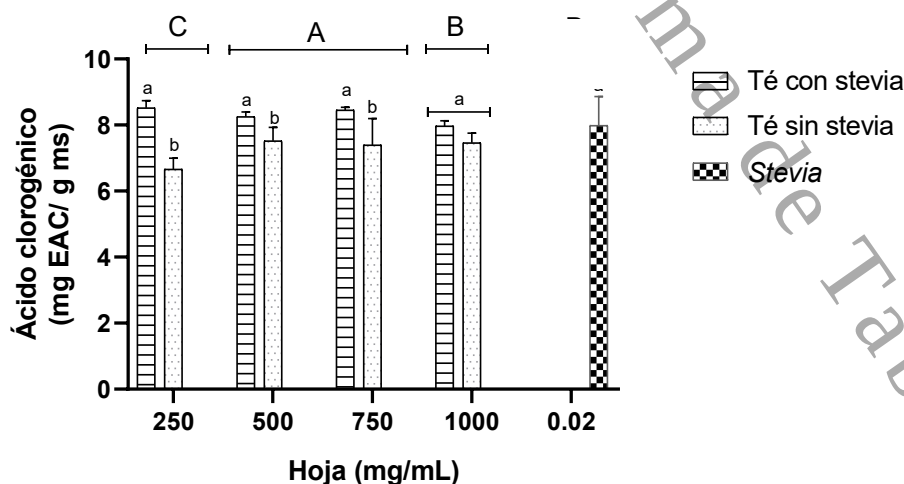
Esto nos da a entender que el comportamiento de flavonoides no mostró una relación lineal directa con el incremento de la concentración de hoja. El valor máximo se registró en la formulación con Stevia a la concentración más baja evaluada, seguido de una disminución y posterior estabilización en concentraciones mayores.

8.3 Determinación de ácido clorogénico

El ácido clorogénico, se encuentra ampliamente distribuido en plantas comestibles, tiene un papel antioxidante, antiinflamatorios, antidiabético, etc. Se señala que su extracción y estabilidad dependen fuertemente de factores como el medio, la temperatura, el pH, y la presencia de otros compuestos que pueden protegerlo o degradarlo (Ziquiang, *et al*, 2023).

En las concentraciones analizadas las infusiones con Stevia presentaron valores significativamente mayores ($p < 0.05$) de ácido clorogénico en comparación con la infusión sin Stevia. A 250 mg/mL, la formulación con Stevia alcanzó aproximadamente 8.9 mg EAC/g ms, mientras que la infusión sin Stevia registró alrededor de 6.7 mg EAC/g ms. Este mismo comportamiento se mantuvo a 500 mg/mL (8.1 – 7.5 mg EAC/g ms), 750 mg/mL (8.5 – 7.4 mg EAC/g ms) y 1000 mg/mL (8.0 – 7.5 mg EAC/g ms), evidenciando un efecto consistente de la adición de Stevia sobre la cuantificación de este ácido fenólico.

Figura 11. Contenido Acido clorogénico en extractos acuosos de té de naranja agria con Stevia y sin Stevia y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con

Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

En términos de tendencia, el contenido de ácido clorogénico en las infusiones con stevia se mantuvo relativamente estable en un rango de 8.0 – 8.6 mg EAC/g ms, sin mostrar una relación lineal directa con el incremento de la concentración de hoja. Por su parte, las infusiones sin Stevia presentaron valores ligeramente menores y también relativamente constantes (6.7 – 7.5 mg EAC/g ms), lo que nos sugiere que la concentración de hoja no fue el principal factor determinante en la variación de este compuesto dentro del intervalo estudiado.

Por último, el tratamiento de stevia sola mostró un contenido de ácido clorogénico cercano a 8.0 mg EAC/g ms, valor comparable a lo observado en las infusiones de Stevia y superior al de las infusiones sin Stevia en la mayoría de las concentraciones. Este resultado indica que la Stevia constituye una fuente importante de ácido clorogénico y que su incorporación a la infusión de naranja agria contribuye significativamente al contenido total de este compuesto en la mezcla.

Los resultados evidencian que la adición de Stevia incrementa de manera significativa la concentración de ácido clorogénico en la infusión de naranja agria, independientemente de la concentración de hoja empleada. La similitud entre los valores obtenidos para la Stevia sola y la infusión con Stevia sugiere una contribución directa de este edulcorante natural al perfil fenólico del producto final.

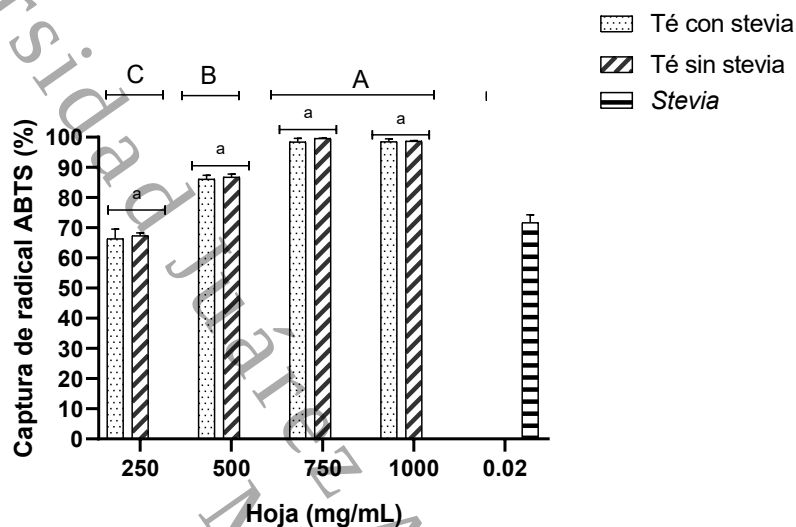
8.4 Determinación de la capacidad antioxidante por medio de las técnicas ABTS y DPPH

En el ensayo ABTS (Figura 12), ambas formulaciones presentaron un incremento progresivo en el porcentaje de captura radicalaria conforme aumentó la concentración de hoja. A 250 mg/mL, la infusión con y sin Stevia mostró valores similares (66 – 68%), sin diferencias significativas.

A 500 mg/mL, la actividad antioxidante se incrementó hasta valores cercanos a 85–88%, manteniéndose la ausencia de diferencias estadísticas entre tratamientos. El mayor porcentaje de inhibición se registró a 750 y 1000 mg/mL (98–100%), donde ambas

formulaciones alcanzaron prácticamente la máxima capacidad de neutralización del radical ABTS, sin diferencias significativas entre sí.

Figura 12. Actividad antioxidante (ABTS) en extractos acuosos de té de naranja agria con Stevia y sin Stevia y de Stevia sola.

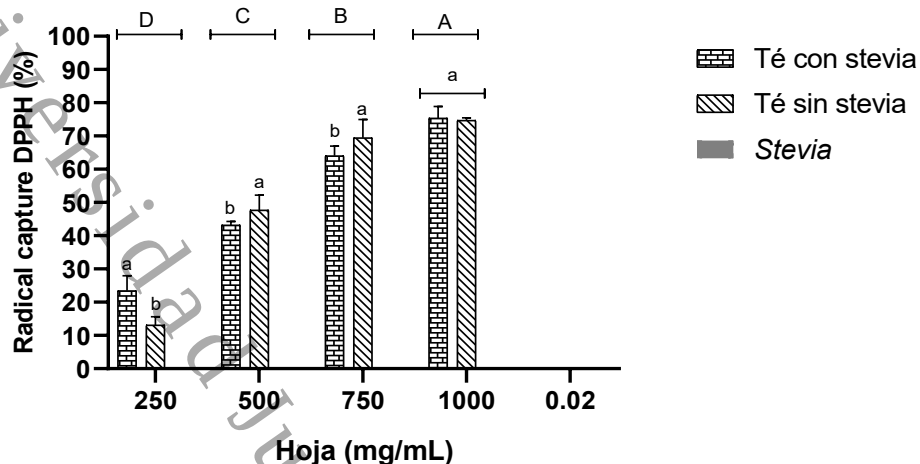


Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

En contraste, la Stevia sola presentó una actividad antioxidante aproximada de 70–72%, valor superior al observado en el té a 250 mg/mL, pero inferior al alcanzado por las infusiones en concentraciones iguales o superiores a 500 mg/mL. Esto indica que, aunque la Stevia posee capacidad antioxidante intrínseca, la actividad total observada en las mezclas a concentraciones elevadas se atribuye principalmente a los compuestos fenólicos de la hoja de naranja agria.

En el ensayo DPPH, se observó igualmente un aumento dependiente de la concentración en ambas formulaciones. A 250 mg/mL, la infusión con Stevia presentó una mayor capacidad de captura (22 – 25%) en comparación con la infusión sin Stevia (12 – 15%), diferencia estadísticamente significativa. A 500 mg/mL, la infusión sin Stevia mostró un valor ligeramente superior (48–50%) respecto a la infusión con Stevia (42–45%), evidenciando una inversión en la tendencia observada a menor concentración.

Figura 13. Actividad antioxidante (DPPH) en extractos acuosos de té de naranja agria con Stevia y sin Stevia y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

A 750 mg/mL, ambas formulaciones alcanzaron valores intermedios – altos (65–70%), con diferencias significativas a favor de la infusión sin Stevia. Finalmente, a 1000 mg/mL no se detectaron diferencias estadísticas entre tratamientos, registrándose los valores máximos de inhibición (75–78%). Aunque la Stevia presenta una actividad antioxidante baja al evaluarse sola, esta al mezclarse con la infusión de naranja agria pudo modificar la concentración relativa de los compuestos antioxidantes presentes o bien pudo afectar las interacciones entre ellos.

De manera comparativa, el ensayo ABTS mostró porcentajes de inhibición más elevados en todas las concentraciones respecto al ensayo DPPH, lo cual puede atribuirse a las diferencias en el mecanismo de reacción y a la solubilidad de los compuestos antioxidantes presentes en la matriz vegetal.

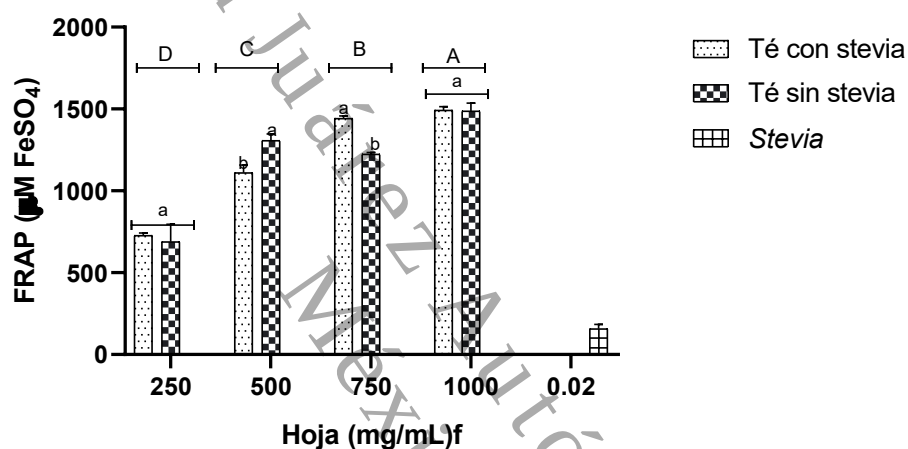
8.5 Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

La gráfica presente (Figura 14) presenta los resultados de la capacidad reductora férrica (FRAP), se observa un incremento progresivo y significativo ($p < 0.05$) del poder reductor conforme aumentó la concentración de hoja en ambas formulaciones. A 250 mg/mL, de la infusión con Stevia presentó un valor aproximado de 750 μ M FeSO_4 , ligeramente

superior al de la infusión sin Stevia (680 –700 $\mu\text{M FeSO}_4$), sin diferencias estadísticas marcadas entre ambos tratamientos.

A 500 mg/mL se observó un incremento notable en la capacidad reductora, alcanzando valores cercanos a 1100 $\mu\text{M FeSO}_4$ en la infusión con Stevia y aproximadamente 1300 $\mu\text{M FeSO}_4$ la infusión sin Stevia, mostrando en este punto una diferencia significativa a favor de la formulación sin Stevia.

Figura 14. Capacidad Antioxidante Equivalente a sulfato férrico en extracto acuoso de té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

En la concentración de 750 mg/mL, en la infusión con Stevia registró un valor cercano a 1450 $\mu\text{M FeSO}_4$, significativamente superior a la infusión sin Stevia (1200 –1250 $\mu\text{M FeSO}_4$). Finalmente, a 1000 mg/mL ambas formulaciones alcanzaron los valores más altos de poder reductor (1500 $\mu\text{M FeSO}_4$), sin diferencias significativas entre tratamientos, lo que indica que a concentraciones elevadas la capacidad antioxidante depende principalmente de la cantidad de compuestos fenólicos extraídos de la hoja de naranja agria.

Por su parte, en el tratamiento de la Stevia sola no da un valor considerablemente inferior (150 – 200 $\mu\text{M FeSO}_4$) en comparación con todas las concentraciones de la infusión, evidenciando que su contribución individual al poder reductor es limitada. Este resultado sugiere que la actividad antioxidante medida por FRAP en las mezclas se atribuye

fundamentalmente a los compuestos fenólicos presentes en la hoja de naranja agria, mientras que la Stevia ejerce un efecto complementario menor.

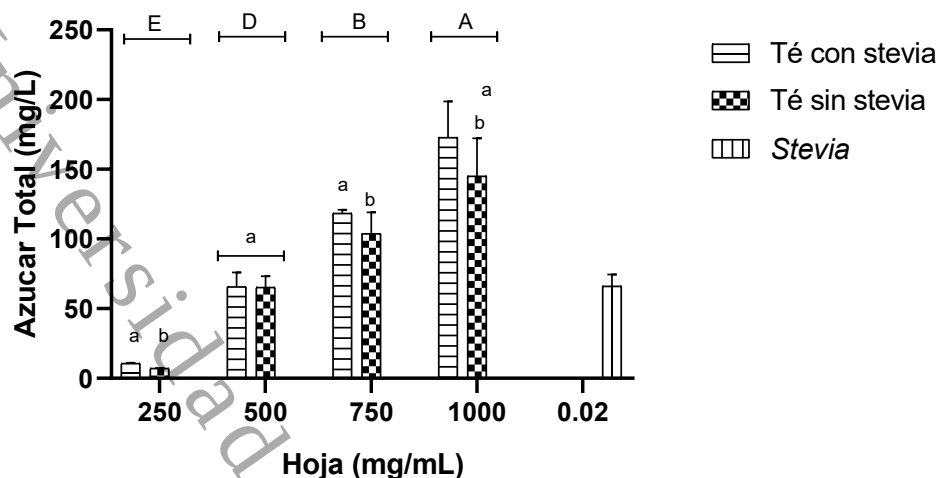
En términos generales, el comportamiento observado en el ensayo FRAP muestra una clara relación dosis – respuesta, con un aumento sostenido del poder reductor al incrementar la concentración de hoja. La adición de Stevia no generó un efecto consistente en todas las concentraciones, mostrando variaciones puntuales a 500 y 750 mg/mL; sin embargo, a la concentración más alta (1000 mg/mL) ambas formulaciones alcanzaron niveles similares de capacidad antioxidante.

8.6 Determinación de azúcares totales por el método de fenol – sulfúrico

El análisis mediante el método fenol – sulfúrico (Figura 15) reveló que el contenido de azúcares totales en las infusiones de *Citrus aurantium* evidencian un incremento progresivo y significativo de este contenido conforme aumentó la concentración de hoja en ambas formulaciones. A 250 mg/mL, el té con Stevia presentó un contenido aproximado de 12–15 mg/L, ligeramente superior al observado en la infusión té sin Stevia (6–8 mg/L), mostrando diferencias estadísticas entre tratamientos.

A 500 mg/mL, ambas formulaciones alcanzaron valores cercanos a 60–70 mg/L, sin diferencias significativas entre sí, lo que indica un comportamiento similar en la liberación o cuantificación de carbohidratos a esta concentración. En 750 mg/mL se observó un aumento adicional, registrándose aproximadamente 120 mg/L en la infusión con Stevia y alrededor de 100 – 105 mg/L en la infusión sin Stevia, con diferencias significativas a favor de la formulación con Stevia.

Figura 15. Contenido de Azúcares totales obtenidos de infusiones de naranja agria con Stevia y sin Stevia y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

El valor máximo se obtuvo a 1000 mg/mL, donde la infusión con Stevia alcanzó aproximadamente 170 – 180 mg/L, mientras que la infusión sin Stevia presentó valores cercanos a 140 – 150 mg/L, diferencia que resultó estadísticamente significativa. Este comportamiento sugiere una relación dosis – respuesta clara entre la concentración de hoja y el contenido de azúcares totales extraídos en la infusión.

En comparación, la Stevia sola mostró un contenido aproximado de 65 – 70 mg/L, valor similar al observado en las infusiones de 500 mg/mL y considerablemente inferior al registrado en 750 y 1000 mg/mL. Este resultado indica que la Stevia aporta compuestos susceptibles de reaccionar en el método fenol – sulfúrico, lo cual es consistente con la presencia de glucósidos de esteviol en su composición. No obstante, en las concentraciones más altas de hoja, el incremento en azúcares totales se atribuye principalmente a los carbohidratos solubles presentes en la matriz vegetal de naranja agria.

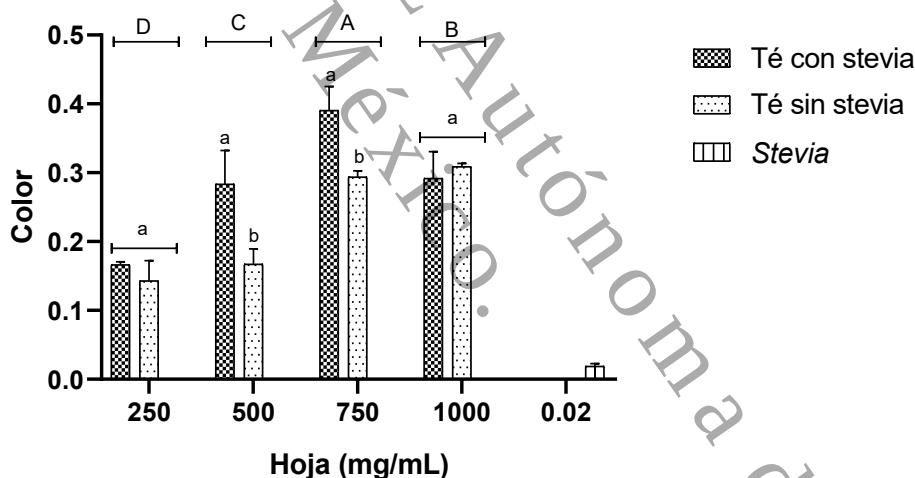
De manera general, el comportamiento observado confirma que la concentración de materia prima influye directamente en la extracción de azúcares totales. Asimismo, la adición de Stevia incrementa significativamente el contenido de carbohidratos detectados en determinadas concentraciones (250, 750 y 1000 mg/mL), probablemente debido a la contribución de sus glucósidos naturales.

8.7 Estimación de color

En la figura 16 se observó una tendencia general al incremento de la intensidad de color conforme aumentó la concentración de hoja desde 250 hasta 750 mg/mL. A 250 mg/mL, la infusión con Stevia presentó un valor aproximado de 0.17 unidades de absorbancia, ligeramente superior al de la infusión sin Stevia (0.14), sin diferencias estadísticas marcadas entre tratamientos.

A 500 mg/mL, la infusión con Stevia mostró un incremento significativo (0.28), superando de manera estadísticamente significativa a la infusión sin Stevia (0.17). Esta diferencia se mantuvo a 750 mg/mL, donde la formulación con Stevia alcanzó el valor máximo observado (0.39), mientras que el té sin Stevia registró aproximadamente 0.29, evidenciando nuevamente diferencias significativas entre ambos tratamientos.

Figura 16. Gráfico de absorbancia obtenido de infusiones de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

En la concentración de 1000 mg/mL, el comportamiento fue distinto, ya que la infusión sin Stevia presentó un valor ligeramente mayor (0.31) en comparación con la infusión con Stevia (0.29), aunque ambos valores fueron estadísticamente similares. Este resultado sugiere que, a concentraciones elevadas, la intensidad de color depende

principalmente de la cantidad de compuestos extraídos de la hoja de naranja agria, independientemente de la adición de Stevia.

Por su parte, la Stevia sola presentó valores de color inferiores a los observados en las formulaciones con naranja agria; no obstante, su contribución a la intensidad cromática de la infusión fue variable. En los tratamientos de 500 y 750 mg/mL su aporte resultó apreciable, mientras que en 250 y 1000 mg/mL la influencia del color fue menor. En consecuencia, el color observado en las mezclas se atribuye fundamentalmente a los pigmentos y compuestos fenólicos presentes en la hoja de naranja agria, tales como flavonoides y otros metabolitos secundarios responsables de la coloración característica de la infusión.

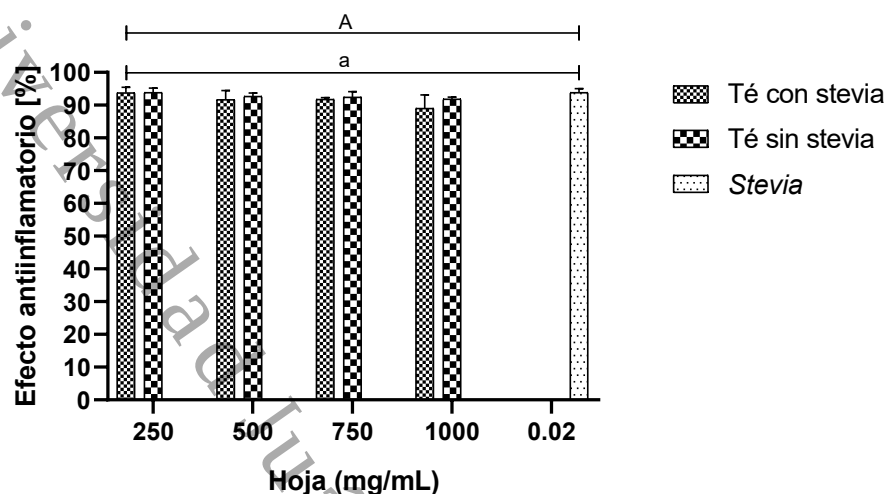
Los resultados nos indican que la concentración de materia prima influye directamente en la intensidad de color de la bebida, mostrando un comportamiento dosis–respuesta hasta 750 mg/mL, seguido de una ligera estabilización a 1000 mg/mL. La adición de Stevia favoreció un aumento significativo en la intensidad de color en concentraciones intermedias (500 y 750 mg/mL), posiblemente debido a interacciones entre compuestos fenólicos y glucósidos presentes en la formulación.

8.8 Actividad antiinflamatoria *in vitro*

Los datos (Figura 17) evidencian que todos los tratamientos presentaron un alto porcentaje de efecto antiinflamatorio en todas las concentraciones evaluadas, con valores superiores al 88% en todos los casos. A 250 mg/mL, tanto la infusión con Stevia como la infusión sin Stevia registraron porcentajes cercanos al 93–95%, sin diferencias estadísticas significativas entre tratamientos.

En las concentraciones de 500 y 750 mg/mL, el comportamiento fue similar, manteniéndose valores elevados (91 – 93%) y sin diferencias significativas entre la formulación con y sin Stevia. A 1000 mg/mL se observó una ligera disminución en el porcentaje de efecto antiinflamatorio (89 – 91%); sin embargo, esta variación no fue estadísticamente significativa respecto a las concentraciones anteriores, lo que indica que la actividad biológica se mantuvo estable dentro del rango estudiado.

Figura 17. Actividad antiinflamatoria de extractos acuosos de té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

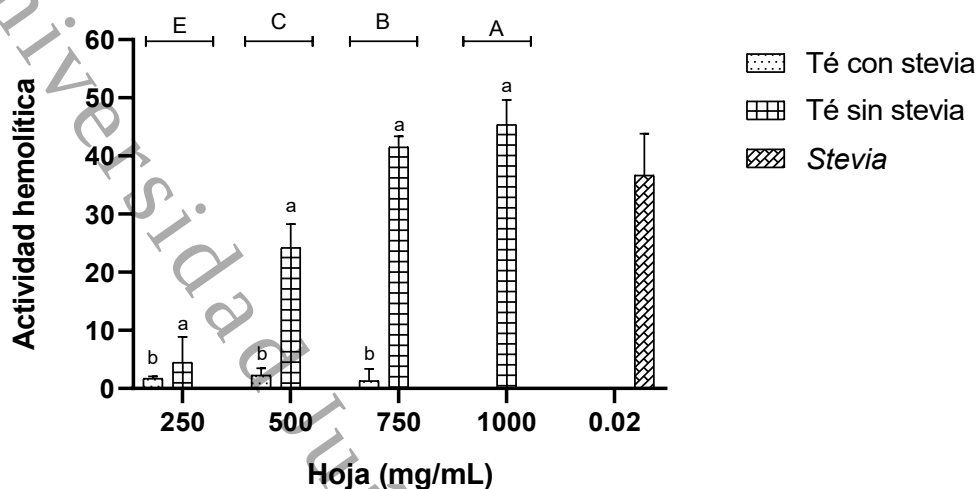
El análisis estadístico representado en la gráfica sugiere que no existen diferencias significativas globales entre concentraciones ni entre formulaciones, evidenciando que la adición de Stevia no modificó el efecto antiinflamatorio de la infusión de naranja agria.

Por su parte, la Stevia sola presentó un porcentaje de efecto antiinflamatorio cercano al 94%, comparable a los valores observados en las formulaciones mixtas. Este resultado indica que la Stevia posee actividad antiinflamatoria intrínseca y que su incorporación a la infusión no interfiere negativamente con la bioactividad de los compuestos presentes en la hoja de naranja agria.

8.9 Actividad hemolítica

Los resultados revelan un efecto dependiente de la concentración de hoja sobre la actividad hemolítica. Las infusiones con Stevia mostraron un actividad hemolítica mínima en todas las concentraciones evaluadas, registrando valores inferiores al 3%. A 250 mg/mL se observó un porcentaje cercano al 1%, aumentando ligeramente a 500 y 750 mg/mL (2 – 3%) y manteniéndose bajo a 1000 mg/mL. Estas variaciones, aunque estadísticamente detectables frente a otros tratamientos, se consideran bajas, lo que sugiere un perfil de seguridad adecuado de la formulación con Stevia en el rango de concentraciones estudiado.

Figura 18. Actividad hemolítica de infusiones de hoja de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

En contraste, los tratamientos sin Stevia mostraron un comportamiento dosis – dependiente, con un incremento progresivo y significativo de la actividad hemolítica conforme aumentó la concentración de hoja. A 250 mg/mL presentó valores cercanos al 5%, incrementándose a aproximadamente 25% a 500 mg/mL, 42% a 750 mg/mL y alcanzando el valor máximo (45%) a 1000 mg/mL. Este patrón indica que la concentración elevada de compuestos extraídos de la hoja de naranja agria podría ejercer un efecto citotóxico sobre la membrana eritrocitaria cuando no se encuentra modulada por la presencia de Stevia.

En el noveno tratamiento (Stevia sola), vemos que presentó un porcentaje de efecto antiinflamatorio cercano al 94%, comparable con los valores observados en las formulaciones mixtas. Este resultados indica que la Stevia posee actividad antiinflamatoria intrínseca y que su incorporación a la infusión no interfiere negativamente con la actividad de los compuestos presentes en la hoja de naranja agrial.

Se puede decir que, los resultados demuestran que la infusión de hojas de naranja agria exhibe un efecto antiinflamatorio elevado y consistente en el rango de concentraciones evaluado. Asimismo, la formulación con Stevia mantiene niveles de actividad similares a la

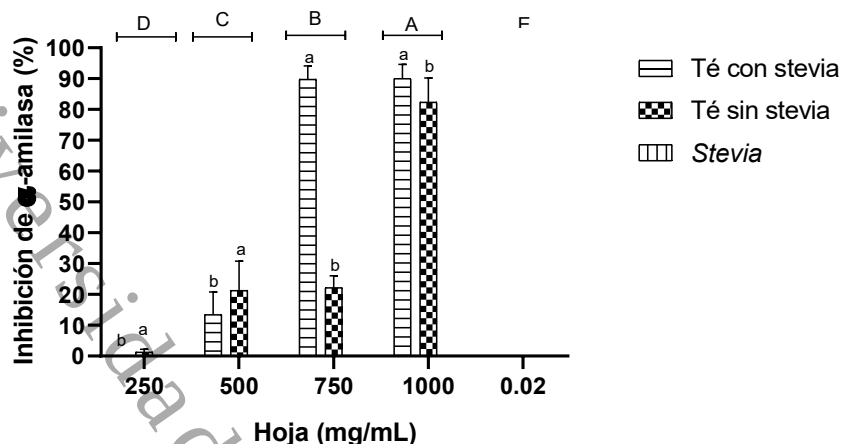
formulación sin Stevia, lo que sugiere que ambos componentes pueden contribuir de manera complementaria al efecto observado.

8.10 Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa

Los resultados muestran evidencias de diferencias significativas entre concentraciones y formulaciones. En la concentración más baja (250 mg/mL), ambas formulaciones presentaron porcentajes de inhibición mínimos (<5%), sin diferencias relevantes entre la infusión con y sin Stevia. A 500 mg/mL se observó un incremento significativo en la actividad inhibitoria, alcanzando aproximadamente 15% en la infusión con Stevia y cerca de 20 – 22% en la infusión sin Stevia, siendo esta última formulación estadísticamente superior.

A 750 mg/mL se evidenció un aumento marcado en la inhibición enzimática, particularmente en la infusión con Stevia, que alcanzó valores cercanos al 88 – 90%, significativamente superiores a los de la infusión sin Stevia (20 – 25%). Este comportamiento sugiere un posible efecto potenciador asociado a la presencia de Stevia en esta concentración intermedia – alta.

Figura 19. Actividad antidiabética obtenida de extractos acuosos de hojas de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

En la concentración de 1000 mg/mL ambas formulaciones mostraron los valores máximos de inhibición, registrando aproximadamente 90% para la infusión con Stevia y 80–85% para la infusión sin Stevia, con diferencias estadísticas entre tratamientos. Este resultado confirma una clara relación dosis – respuesta y demuestra que el incremento en la concentración de hoja favorece la actividad inhibitoria de la α -amilasa.

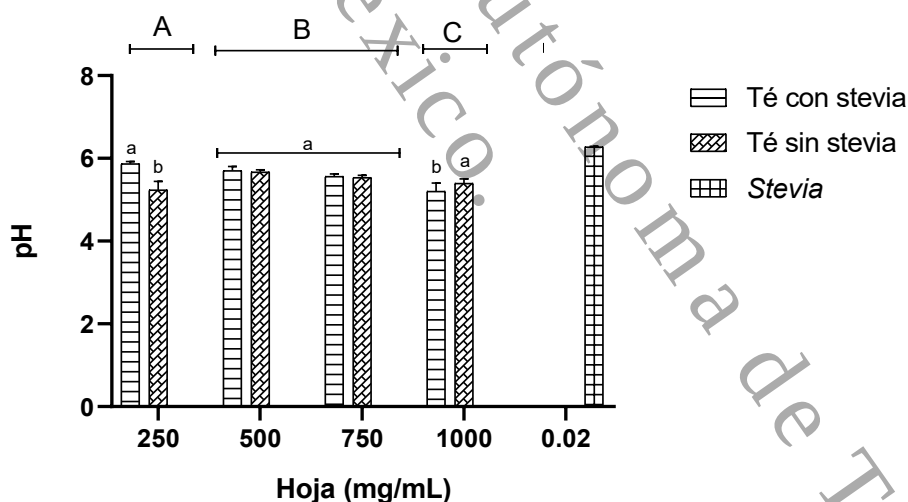
Por su parte, la Stevia sola no presentó actividad inhibitoria significativa, evidenciando valores cercanos a 0%. Este hallazgo indica que, bajo las condiciones del ensayo, la Stevia por sí sola no contribuye de manera directa a la inhibición de la enzima; sin embargo, su presencia en la formulación parece potenciar la actividad observada en concentraciones elevadas de la infusión.

En conjunto, los resultados demuestran que la infusión de hojas de naranja agria posee una actividad antidiabética dependiente de la concentración, evidenciada por su capacidad de inhibir la α -amilasa. La adición de Stevia no mostró efecto relevante a bajas concentraciones, pero sí incrementó significativamente la inhibición en concentraciones intermedias y altas, lo que sugiere posibles interacciones entre los compuestos fenólicos y otros metabolitos presentes en la formulación.

8.11 Determinación de pH y acidez titulable

Los valores de pH en ambas formulaciones presentaron valores ligeramente ácidos en todo el rango estudiado (5.2 – 5.9). A 250 mg/mL, la infusión con Stevia mostró un pH cercano a 5.8, significativamente mayor que a la infusión sin Stevia (5.3), lo que indica una menor acidez inicial en presencia de Stevia. En las concentraciones de 500 y 750 mg/mL, los valores de pH fueron similares entre tratamientos (5.5 – 5.7), sin diferencias estadísticas relevantes.

Figura 20. Comportamiento del pH en las infusiones de té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.



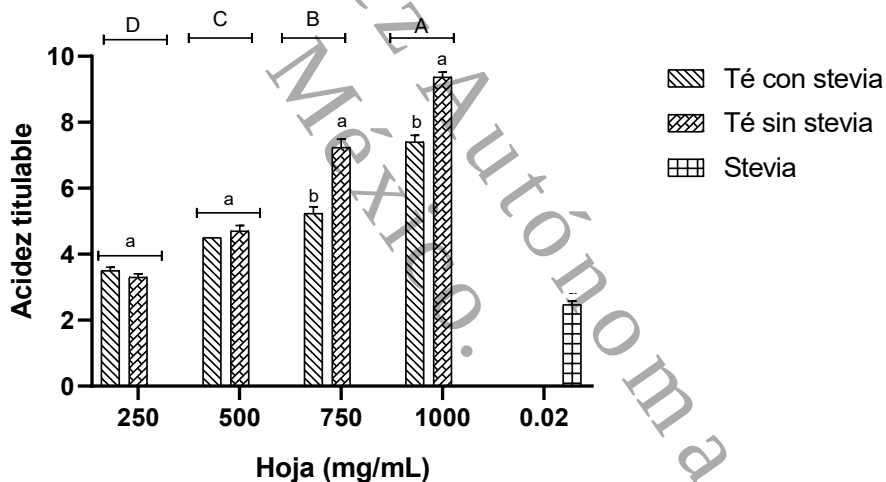
Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

Sin embargo, a 1000 mg/mL se observó una ligera disminución del pH en ambas formulaciones, alcanzando valores aproximados de 5.2 – 5.4, lo que sugiere un aumento en la concentración de compuestos ácidos extraídos a mayor concentración de hoja. En cuanto

a la Stevia sola esta presentó un pH cercano a 6.3, superior al observado en todas las infusiones, lo que confirma su carácter menos ácido en comparación con la matriz vegetal de naranja agria. Este resultado indica que la disminución del pH en las mezclas se atribuye principalmente a los ácidos orgánicos presentes en la hoja.

En relación con la acidez titulable, se observó un comportamiento inversamente proporcional al pH. Ambas formulaciones mostraron un incremento significativo ($p < 0.05$) en la acidez conforme aumentó la concentración de hoja. A 250 mg/mL, los valores fueron bajos (3.2 – 3.5), incrementándose progresivamente a 500 mg/mL (4.5 – 4.8), 750 mg/mL (5.2 – 7.2) y alcanzando los valores máximos a 1000 mg/mL (7.5 para la infusión con Stevia y 9.0 – 9.5 para la infusión sin Stevia).

Figura 21. Comportamiento de la acidez en las infusiones evaluadas de un té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

En las concentraciones intermedias y altas (750 y 1000 mg/mL), la infusión sin Stevia presentó valores de acidez titulable significativamente mayores que la infusión con Stevia, lo que sugiere que la adición de Stevia podría ejercer un efecto modulador, posiblemente relacionado con su capacidad de interacción con compuestos ácidos o con la dilución relativa de la matriz vegetal.

La Stevia sola mostró un valor de acidez intermedio (2.5), considerablemente inferior al registrado en las infusiones de mayor concentración, confirmando que la acidez total del producto final depende principalmente de los compuestos presentes en la hoja de naranja agria.

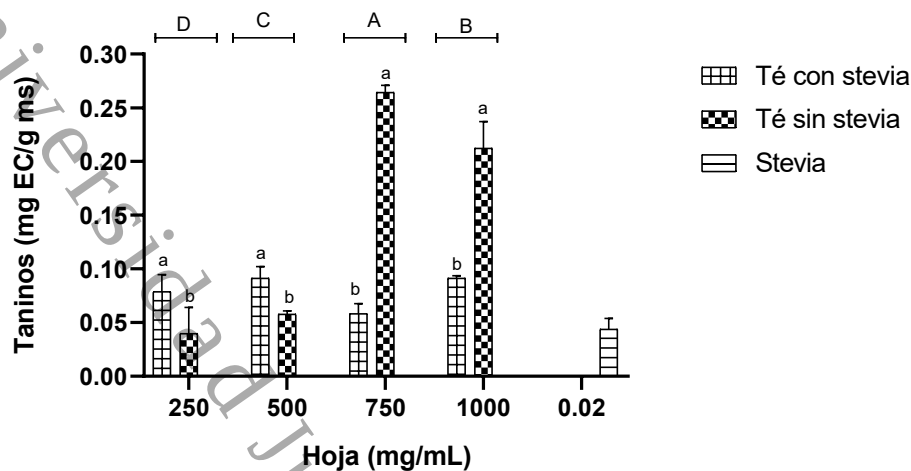
En conjunto, los resultados demuestran que el incremento en la concentración de hoja favorece un aumento significativo de la acidez titulable y una disminución correlativa del pH, evidenciando una relación dosis – respuesta clara. La adición de Stevia no modificó drásticamente el pH, pero sí mostró un efecto atenuante sobre la acidez titulable en concentraciones elevadas.

8.12 Determinación de Taninos

Los resultados evidencian diferencias significativas tanto entre concentraciones como entre formulaciones. En la concentración de 250 mg/mL, la infusión con Stevia presentó un contenido aproximado de 0.08 mg EC/g ms, significativamente mayor que al de la infusión sin Stevia (0.04 mg EC/g ms). A 500 mg/mL se mantuvo esta tendencia, con valores cercanos a 0.09 mg EC/g ms para la infusión con Stevia y 0.06 mg EC/g ms para la infusión sin Stevia, mostrando nuevamente diferencias estadísticas entre tratamientos.

En la concentración de 750 mg/mL se observó un cambio notable en el comportamiento: la infusión sin Stevia registró el valor máximo de taninos (0.27 mg EC/g ms), significativamente superior al de la infusión con Stevia (0.06 mg EC/g ms). Este incremento marcado sugiere una mayor extracción o disponibilidad de taninos en ausencia de Stevia a esta concentración intermedia – alta.

Figura 22. Taninos obtenidos de extractos acuosos de té de naranja agria con y sin Stevia y de Stevia sola.



Nota. Las letras mayúsculas diferentes (A – D) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos con y sin Stevia. Letras minúsculas diferentes (a – b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones de té con Stevia y sin Stevia dentro de una misma concentración de hojas de naranja agria. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

A 1000 mg/mL, en la infusión sin Stevia mantuvo valores elevados (0.21 mg EC/g ms), aunque ligeramente menores que a 750 mg/mL, mientras que la infusión con Stevia mostró un incremento moderado (0.09 mg EC/g ms), permaneciendo significativamente por debajo del tratamiento sin Stevia. Este comportamiento indica que, a concentraciones altas, la presencia de Stevia podría estar modulando la cuantificación o interacción de los taninos presentes en la matriz vegetal.

Por su parte, la Stevia sola presentó un contenido bajo de taninos (0.04 mg EC/g ms), inferior a la mayoría de las concentraciones evaluadas en la infusión, particularmente en el tratamiento sin Stevia a 750 y 1000 mg/mL. Este resultado sugiere que la Stevia no constituye una fuente relevante de taninos y que su contribución al contenido total en la mezcla es limitada.

Los resultados evidencian un comportamiento dependiente de la concentración, especialmente en la formulación sin Stevia, donde se observa un aumento pronunciado de taninos a concentraciones intermedias y altas. La adición de Stevia parece ejercer un efecto atenuante sobre el contenido cuantificado de taninos, posiblemente debido a interacciones

entre compuestos fenólicos y glucósidos presentes en la formulación, que podrían influir en la disponibilidad o reactividad de estos metabolitos en el método analítico empleado.

8.13 Evaluación sensorial.

Se realizó la evaluación sensorial a las 8 formulaciones (Tabla 2) correspondientes a los dos tipos de infusión: una infusión combinada de hojas de naranja agria con Stevia (T1 – T4) y una infusión de hojas de naranja agria sin Stevia (T5 – T8). En la formulación combinada, se evaluaron concentraciones de 250, 500 y 750 y 1000 mg de hoja de naranja agria, manteniendo constante la adición de 0.02 mg de Stevia; mientras que en la formulación sin Stevia se analizaron las mismas concentraciones de hoja, pero sin la incorporación del edulcorante.

Tabla 2. Tratamientos evaluados sensorialmente.

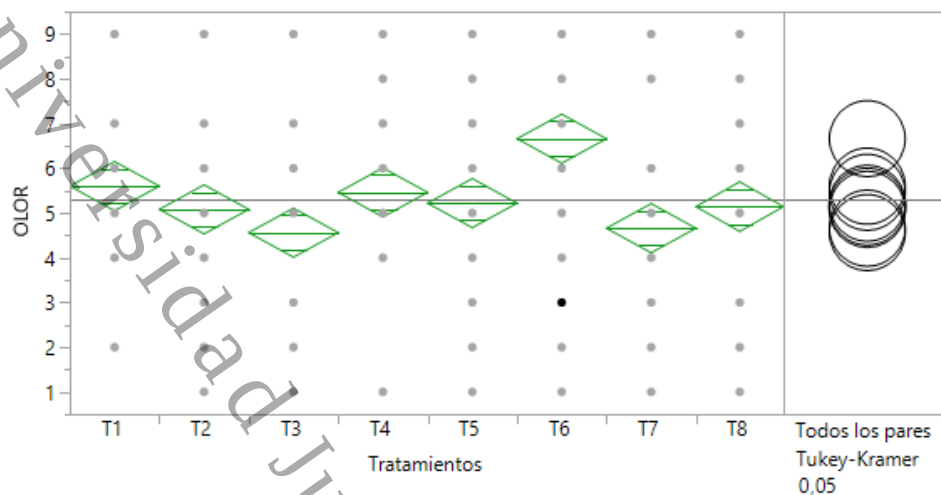
Tratamientos		Hojas de naranja Agria	Hojas de Stevia
Infusión combinada (Hoja de naranja agria y Stevia)	T1	250 mg	0.02 mg
	T2	500 mg	0.02 mg
	T3	750 mg	0.02 mg
	T4	1000 mg	0.02 mg
Infusión de hojas de naranja agria	T5	250 mg	---
	T6	500 mg	---
	T7	750 mg	---
	T8	1000 mg	---

Fuente. Elaboración propia

En las gráficas se muestran los resultados de la evaluación sensorial de las infusiones elaborados con hojas de naranja agria con y sin Stevia, en diferentes concentraciones de hoja, valorando los atributos de olor, color y sabor mediante escala hedónica de 9 puntos a un panel de 85 jueces no entrenados, en donde un 80% fue el género femenino, mientras que 20% del género masculino.

En la evaluación de olor, la mayoría de los tratamientos se centran alrededor de 5 – 6 puntos de valoración. Esto nos sugiere que el atributo del olor fue percibido de forma más consistente entre los panelistas, con menor variabilidad Inter duplicados.

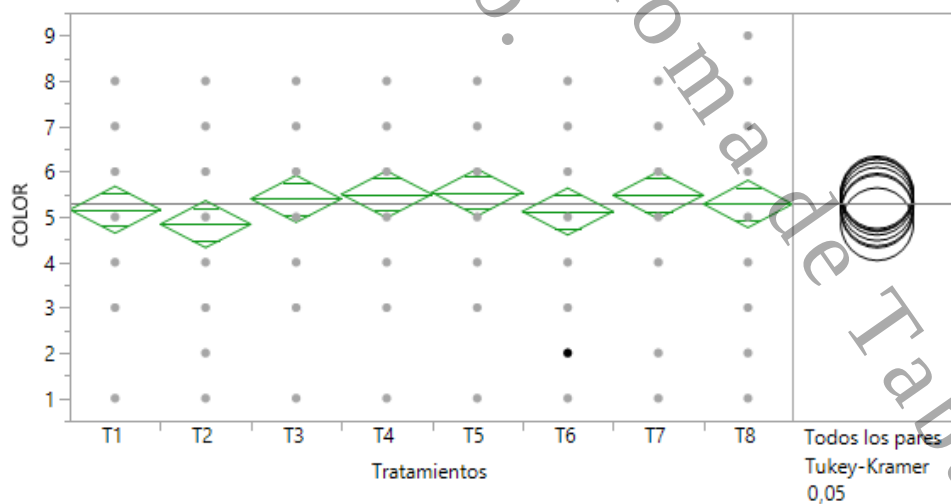
Figura 23. Preferencias de olor hacia las infusiones de naranja agria con y sin Stevia.



Nota. Los valores representan la media $\pm$ DS de tres repeticiones de cada tratamiento.

En el segundo gráfico se aprecia que la mayoría de los tratamientos se sitúan alrededor de puntuaciones intermedias (5-6) con un rango moderado de dispersión. Algunos tratamientos pueden mostrar puntuaciones menores (4 puntos) o mayores de (7), pero en general la variabilidad es moderada, de igual manera, al igual que en los resultados del olor, parece haber poca divergencia entre tratamientos en cuanto a la percepción de color.

Figura 24. Preferencias de color hacia las infusiones de naranja agria con y sin Stevia.



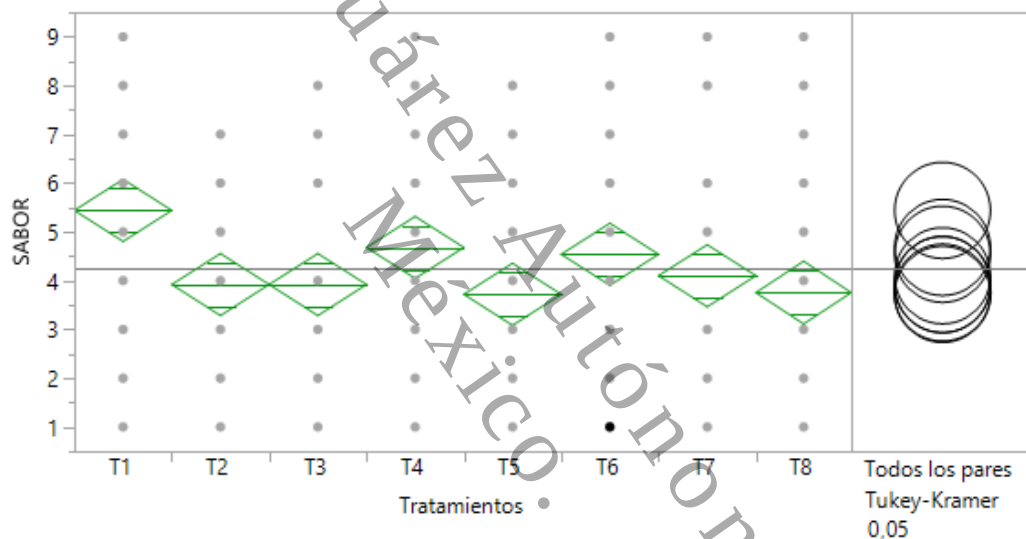
Nota. Los valores representan la media $\pm$ DS de tres repeticiones de cada tratamiento.

En nuestro estudio, el hecho de que los puntajes de sabor no presentaran diferencias entre los tratamientos sugiere que la cantidad de Stevia empleada no produjo cambios

perceptibles importantes en el gusto de las infusiones. Es decir, aunque se modificó la concentración de hojas de naranja agria y se comparó la presencia o ausencia de Stevia, los evaluadores no detectaron variaciones marcadas en el sabor que influyen en su percepción general.

Por último en el gráfico de sabor se observa que los tratamientos (T1, T2 y T8) tienen medidas y rangos bastantes dispersos (puntos grises) alrededor de los valores medidos. Algunos tratamientos muestran puntuaciones relativamente altas mientras que otros se ubican hacia valores más moderados.

Figura 25. Preferencias de sabor hacia las infusiones de naranja agria con y sin Stevia.



Nota. Los valores representan la media $\pm$ DS de tres repeticiones de cada tratamiento.

Este estudio es coherente con el atributo “sabor” ya que presenta mayor variabilidad: si las mezclas con mayores concentraciones de Stevia empiezan a introducir regustos, los panelistas manifestarían más dispersión en puntuaciones de sabor.

Con esto se define que el hecho de que el sabor presenta mayor variabilidad entre tratamientos de olor y color sugiere que las modificaciones de concentración de hoja y presencia/ausencia de Stevia impacta principalmente los compuestos gustativos (fenoles, tanino, glucósidos) los panelistas percibieron diferencias de sabor más que diferencias visuales u olfativas. En cuanto a los puntajes de olor y color están bastantes agrupados lo que sugieren que los cambios de concentración de hoja o Stevia no alteran radicalmente los

compuestos volátiles olfatorios o los pigmentos visuales del té de naranja agria en un rango estudiado, es decir esas percepciones parecen menos susceptibles a esos factores en nuestro modelo experimental.

Si el sabor no varía drásticamente, puede ser que los niveles de Stevia usados fueron adecuados para evitar fenómenos como regusto amargo, y que la interacción hoja - Stevia no generó alteraciones olfativas o visuales perceptibles para los panelistas, tal como es el caso del T4 (1000 mg de hojas de naranja agria + 0.02 mg de Stevia) ya que muestra un desempeño más equilibrado y alto en los tres atributos (color, olor y sabor aceptable – alto), coincidiendo así con estudios que indican que dosis moderadas de Stevia pueden integrarse bien sin comprometer la aceptación sensorial. Por otro lado, en la infusión sin Stevia el mejor tratamiento es el T6, (500 mg de hoja de naranja agria), ya que este presenta un mejor equilibrio sobresaliendo su alta aceptación en olor y sus buenos resultados en color y sabor.

Por último, mientras que al aumentar la concentración de hoja podría aportar más compuestos de sabor (fortaleciendo notas amargas o astringentes) o mayor intensidad aromática, también puede potenciar la extracción de compuestos no deseados que penalizan la aceptación. En nuestro estudio no se observa que los tratamientos con mayor concentración hayan sido rechazados rotundamente, lo que podría indicar que la tolerancia sensorial es aceptable dentro del rango evaluado.

IX. DISCUSIÓN

9.1 Cuantificación de polifenoles totales

En general, las formulaciones presentaron contenidos elevados de PFT y un comportamiento dependiente de la concentración. A 250 mg/mL (4.8 mg EAG/g ms) y 1000 mg/mL, la infusión con Stevia (3.4 mg EAG/g ms) mostró valores significativamente mayores que la formulación sin Stevia, mientras que a 500 mg/mL ocurrió lo contrario (3.8 mg EAG/g ms).

En la concentración intermedia (750 mg/mL) no se observaron diferencias estadísticas, lo que sugiere que el efecto de la Stevia no es constante, sino que depende de la proporción utilizada. Además, se observó una tendencia a la disminución del contenido fenólico conforme aumentó la concentración de hoja, particularmente en la formulación con Stevia, lo cual podría relacionarse con fenómenos de saturación del extracto o interacciones entre compuestos que limitan su extracción.

Este hallazgo sugiere una posible interacción positiva entre los compuestos fenólicos de *C. aurantium* y los glicósidos de esteviol, lo que podría favorecer la liberación, solubilización o estabilidad de los metabolitos fenólicos en el extracto. Este comportamiento coincide con lo reportado en 2020 por Castañeda Saucedo *et al.*, en donde se evaluaron distintas infusiones de hierbas añadiendo stevia (hojas secas) para ver su efecto en el contenido de polifenoles totales (PFT). Se encontró que la incorporación de hojas de stevia a algunas infusiones incrementaban el PFT respecto a las infusiones sin stevia.

Con la Stevia sola (0.02 mg/mL), se presentó un contenido fenólico considerablemente menor (2.5 mg EAG/g ms) en comparación con todas las formulaciones de las infusiones de naranja agria, mostrando diferencias significativas respecto a los tratamientos evaluados.

Papaefthimiou, M. *et al.*, (2024), reportaron que los extractos acuosos o hidroalcohólicos de stevia presentan valores de PFT elevados (60 – 70 mg EAG/G en hojas de stevia), mucho mayores que los valores observados en las infusiones elaboradas. Aunque en el trabajo se emplean infusiones acuosas a concentraciones de hoja más baja, la literatura

sugiere que bajo condiciones más agresivas o con mejores solventes podrían lograrse PFT superiores por unidad de materia seca.

9.2 Determinación de flavonoides

El contenido de flavonoides no mostró una relación lineal con el aumento de la concentración de hoja. El valor más alto se registró en la infusión con Stevia a 250 mg/mL (23 mg EC/g ms), significativamente superior al de la infusión sin Stevia, lo que sugiere que a bajas concentraciones la presencia del edulcorante podría favorecer la extracción o estabilidad de estos compuestos.

En las concentraciones intermedias (500 y 700 mg/mL), no se observaron diferencias entre tratamientos y los valores se mantuvieron estables (6 – 7 mg EC/g ms), mientras que a 1000 mg/mL la infusión con Stevia volvió a mostrar un contenido ligeramente mayor, aunque con menos magnitud que a 250 mg/mL.

En 2025 un estudio realizado por Eldashan, *et al.*, sobre los efectos metabolómicos, antioxidantes e inhibidores de enzimas de los frutos de *Citrus aurantium* reportan que el contenido de flavonoides en hoja de *C. aurantium* es significativamente mayor (6.31 mg EC/g) que el de los frutos (2-15 mg EC/g) lo cual coincide con la importancia de usar partes vegetales adecuadas (hojas) para maximizar contenido de compuestos de activos.

En ese mismo estudio se menciona que, en hojas jóvenes de *C. aurantium*, Meiri H, *et al*, (2023), encontraron valores de fenoles totales muy altos (98 mg EAG/g) bajo condiciones óptimas extractivas. Esto sugiere que los valores de flavonoides obtenidos en nuestros análisis podrían estar limitados por condiciones de extracción (temperatura, tiempo y solvente) y no solo por la concentración de hoja.

En cuanto al tratamiento de la Stevia sola, esta presentó un contenido de flavonoides de aproximadamente 7 – 8 mg EC/g ms, valor comparable al observado en las infusiones de naranja agria en concentraciones de 500, 750 y 1000 mg/mL.

En 2022, Salar J. *et al.*, publicó un estudio relacionado con la influencia de los edulcorantes (sacarosa, sucralosa y stevia) en los compuestos bioactivos para un sistema modelo sobre bebidas de cítricos y maqui (*Aristotelia chilensis*), en este se evaluaron como

los distintos edulcorantes modifican la estabilidad de los flavonoides y otros compuestos fenólicos en bebidas cítricas durante el almacenamiento. Allí encontraron que la adición de la stevia reduce la pérdida de flavanonas en soluciones cítricas, comparado con otras alternativas, lo que es coherente con el hallazgo de que la stevia ayuda a “preservar” niveles más altos de flavonoides, sobre todo a principios de la extracción.

En “Una visión general de las propiedades de la *Stevia rebaudiana* Bertoni: avances recientes en técnicas de extracción, fitoquímica, aplicaciones alimentarias y beneficios para la salud”, se revisaron los procedimientos para maximizar la extracción de flavonoides de Stevia misma, indicando que parámetros como temperatura, relación solvente: material, tipo de solvente e incluso tratamiento previo de la hoja influye en los rendimientos de flavonoides. Esto apoya la idea que nuestras condiciones de hoja, aunque altas, podrían no estar sacando ventaja plena de las condiciones de extracción si no se ajustan otros factores (Khilar, *et al.*, 2022).

9.3 Determinación de ácido clorogénico

En las concentraciones evaluadas, las infusiones con Stevia presentaron contenidos significativamente mayores de ácido clorogénico que las formulaciones sin Stevia. Los valores se mantuvieron relativamente constantes (8.0 – 8.6 mg EAC/g ms) en presencia de Stevia, mientras que las infusiones sin este edulcorante mostraron concentraciones ligeramente menores y también estables (6.7 – 7.5 mg EAC/g ms), lo que indica que el incremento no dependió directamente de la cantidad de hoja utilizada, sino de la incorporación de Stevia.

Además, la Stevia sola presentó niveles similares a los de las mezclas con Stevia, evidenciando que constituye una fuente importante de este ácido fenólico y que se adición contribuye directamente al perfil fenólico final.

Simlat, *et al.*, (2023) realizó un estudio el cual se basa en el contenido de compuestos fenólicos en las plantas de *Stevia rebaudiana* en donde se encontraron que las concentraciones de ácido clorogénico en hoja de stevia pueden variar, y que tratamiendo ambientales o de pretratamiento (como melatonina, condiciones de salinidad) influyen mucho en la acumulación de este compuesto. En particular, los valores obtenidos en hojas

maduras o jóvenes muestran diferencias importantes, lo que implica que la edad del material vegetal y su origen botánico puede afectar la cantidad de ácido clorogénico disponible para la extracción.

En conjunto, los resultados evidencian que la adición de Stevia incrementa de manera significativa la concentración de ácido clorogénico en la infusión de naranja agria, independientemente de la concentración de hoja empleada. La similitud entre los valores obtenidos para la Stevia sola y la infusión con Stevia sugiere una contribución directa de este edulcorante natural al perfil fenólico del producto final.

9.4 Determinación de la capacidad antioxidante por medio de las técnicas ABTS y DPPH

En el ensayo ABTS, ambas formulaciones mostraron un aumento progresivo de la actividad antioxidante conforme se incrementó la concentración de hoja, alcanzando valores cercanos al 100% a 750 y 1000 mg/mL, sin diferencias significativas entre la infusión con y sin Stevia. Esto indica que, frente a este radical, la capacidad antioxidante depende principalmente de la concentración de hoja de naranja agria y no de la adición del edulcorante.

La Stevia sola, presentó actividad moderada, inferior a la observada en las concentraciones más altas de las infusiones, lo que sugiere que el efecto antioxidante total en las mezclas se atribuye mayormente a los compuestos fenólicos de *Citrus aurantium*.

En el ensayo DPPH, también se observó un comportamiento dependiente de la concentración, aunque a diferencias entre tratamientos a bajas y medias concentraciones. A 250 mg/mL, la formulación con Stevia mostró mayor actividad, mientras que a 500 y 750 mg/mL la infusión sin Stevia presentó valores ligeramente superiores. A 1000 mg/mL ambas alcanzaron los máximos porcentajes de inhibición sin diferencias estadísticas. La Stevia sola mostró una actividad limitada frente a DPPH, lo que indica que su contribución antioxidante es más evidente en ciertos sistemas radicalarios que en otros.

Un estudio reciente (Xiao, *et al.*, 2022) aplicó un sistema para el cribado de antioxidantes de *Citrus aurantium* L. var. *amara* en donde se reportaron valores de IC₅₀

(concentración inhibitoria media) para la captación de DPPH de $111.9 \pm 10.06 \mu\text{g/mL}$ para Naringina y $39.07 \pm 2.51 \mu\text{g/mL}$ para Hesperitina, compuestos clave en el fruto. Aunque nuestro resultado se expresan en porcentaje de inhibición y no en IC_{50} , la alta actividad mostrada por nuestras infusiones, alcanzando casi el 100% en ABTS y hasta el 77% en DPPH a altas concentraciones (1000 mg/mL), sugiere una concentración relevante de estos compuestos en el extracto acuoso (infusión) de la hoja, comparable a la potencia de los compuestos aislados.

La *Stevia rebaudiana* es una planta conocida por su contenido de glucósidos de esteviol (edulcorantes) y también por ser rica en polifenoles que confieren capacidad antioxidante. Un metaanálisis (Papaefthimiou M. *et al*, 2024) integró datos de ensayos antioxidantes de extractos de hoja de Stevia encontró que los extractos acuosos e hidroalcohólicos poseen alta actividad antioxidante, siguiendo el perfil de su contenido fenólico.

Los resultados indican que la capacidad antioxidante de las infusiones de naranja agria es dependiente de la concentración y del tipo de radical evaluado. La adición de Stevia no modificó significativamente la actividad antioxidante en el ensayo ABTS, pero sí influyó en el comportamiento frente al radical DPPH a bajas y medias concentraciones.

9.5 Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

En el ensayo FRAP se observó una relación dosis – respuesta clara en ambas formulaciones, con un incremento significativo del poder reductor al aumentar la concentración de hoja. A 250 mg/mL, no se detectaron diferencias marcadas entre tratamientos; A 500 mg/mL la infusión sin Stevia presentó mayor capacidad reductora ($1300 \mu\text{M FeSO}_4$); a 750 mg/mL ocurrió lo contrario, favoreciendo a la formulación con Stevia ($1450 \mu\text{M FeSO}_4$); y a 1000 mg/mL ambas alcanzaron los valores máximos sin diferencias estadísticas ($1500 \mu\text{M FeSO}_4$).

La Stevia sola mostró valores considerablemente inferiores ($150 - 200 \mu\text{M FeSO}_4$), lo que indica que la actividad reductora medida por FRAP se atribuye principalmente a los compuestos fenólicos de *Citrus aurantium*, mientras que la Stevia ejerce efecto complementario y variable según la concentración.

En el estudio “Propiedades antioxidantes y sensoriales de los té de hierbas formulados a partir de hojas secas de moringa (*Moringa stenopetala*) y Stevia (*Stevia rebaudiana Bertonii*)” (2021), los autores midieron FRAP en té formulados con diferentes porciones de moringa y Stevia. Encontraron que las formulaciones con niveles relativamente altos de Stevia (30 – 35%) presentando valores significativamente mayores de FRAP comparados con el té de moringa puro (sin Stevia) (Kinki, A. *et al.*, 2020)

En el artículo, las muestras con menor porcentaje de Stevia (5% o 10%) mostraron valores de FRAP inferiores al control (solo moringa), pero a partir de una porción intermedia el efecto antioxidante se reforzó. Esto coincide con la observación de que el impacto de Stevia es más notorio en concentraciones intermedias (500 – 750 mg/mL), y que en la concentración más alta la ventaja ya es menor.

De manera general, los resultados obtenidos mediante el ensayo FRAP evidenciaron una relación dosis – respuesta, reflejando así un incremento progresivo del poder reductor conforme aumento la concentración de hojas utilizadas. Al incorporar la Stevia no se produjo un efecto uniforme en todas las concentraciones evaluadas, observándose diferencias específicas en 500 y 750 mg/mL. No obstante, a 1000 mg/mL, las formulaciones con y sin Stevia presentaron valores comparables de capacidad antioxidante, sin diferencias apreciables entre ellas.

9.6 Determinación de azúcares totales por el método de fenol – sulfúrico

El análisis mediante el método fenol – sulfúrico mostró un incremento significativo y progresivo de azúcares totales conforme aumentó la concentración de hoja en ambas formulaciones, evidenciando una clara relación dosis – respuesta. A 250 mg/mL y en las concentraciones más altas (750 y 1000 mg/mL), la infusión con Stevia presentó valores significativamente mayores que la formulación sin Stevia, mientras que a 500 mg/mL no se observaron diferencias entre tratamientos.

La Stevia sola mostró un contenido intermedio, similar al registrado en 500 mg/mL, pero inferior al de las concentraciones más elevadas, lo que indica que su aporte es relevante, aunque el aumento principal a dosis altas se debe a los carbohidratos solubles presentes en la hoja de *Citrus aurantium*.

De acuerdo con Mlambo, R., *et al.* (2022), describieron que las hojas de stevia contienen carbohidratos solubles y azúcares reductores, además de sus glucósidos de sabor, lo que sugiere que la propia stevia aporta material reactivo en análisis de azúcares totales. Por otro lado Sohang, H., *et al* (2016), nos presenta que los extractos de Stevia contienen cantidades apreciables de azúcares solubles (totales y reductores) dependiendo del método de extracción empleado.

De manera general, el comportamiento observado confirma que la concentración de materia prima influye directamente en la extracción de azúcares totales. Asimismo, la adición de Stevia incrementa significativamente el contenido de carbohidratos detectados en determinadas concentraciones (250, 750 y 1000 mg/mL), probablemente debido a la contribución de sus glucósidos naturales.

9.7 Estimación de color

La intensidad de color mostró una relación dosis – respuesta desde 250 hasta 750 mg/mL, incrementándose progresivamente en ambas formulaciones. En las concentraciones mayores que la formulación sin Stevia, mientras que a 250 y 1000 mg/mL no se observaron diferencias estadísticas. A la concentración más alta, ambos tratamientos tendieron a estabilizarse, lo que indica que el color depende principalmente de la cantidad de compuestos extraídos de la hoja de *Citrus aurantium*. La Stevia sola mostró una intensidad cromática baja, evidenciando que su contribución directa al color es mínima.

En 2025, Díaz – García, A. *et al.*, monitorearon el color junto con fenoles totales, antocianinas, etc., durante el almacenamiento. Encontraron que el color decrece bajo condiciones responsables del calor (antocianinas u otros pigmentos) son sensibles al ambiente. Por otro lado Castañeda Saucedo *et al.*, (2020), compararon infusiones con y sin stevia, y aunque los fenoles y actividad antioxidante cambiaban, el color instrumental de algunas infusiones no mostró diferencias marcadas cuando la cantidad de planta adicional no alteraba demasiado la turbidez o los sólidos suspendidos.

9.8 Actividad antiinflamatoria *in vitro*

Los resultados evidenciaron un alto efecto antiinflamatorio en todas las concentraciones evaluadas (>88%), sin diferencias estadísticas significativas entre la infusión

con y sin Stevia. Desde 250 hasta 750 mg/mL, los valores se mantuvieron estables (91 – 95%) y aunque a 1000 mg/mL se observó una ligera disminución, esta no fue significativa. La Stevia sola presentó actividad antiinflamatoria propia y que su incorporación no modifica de manera relevante la bioactividad de la infusión.

En un artículo titulado Mlambo, R., *et al.*, (2022), reportan la actividad antiinflamatoria de la *Stevia rebaudiana*, describiendo que esta contiene metabolitos como glucósidos de esteviol, ácidos fenólicos y flavonoides que exhiben actividad antiinflamatoria, entre otros efectos benéficos. Por otro lado Papaefthimiou M. , *et al.*, (2024), encontro que los extractos de hoja de stevia tienen efectos antiinflamatorios, reduciendo marcadores de inflamación en modelos animales, lo que apoya la idea de que la stevia por sí misma puede contribuir al efecto antiinflamatorio en mezclas o formulaciones.

En un estudio reciente sobre *Citrus aurantium L.*, describe que esta especie contiene compuestos bioactivos que ha mostrado actividad antiinflamatoria significativa en modelos *in vivo* e *in vitro*, estos compuesto bioactivos son; como flavonoides (naringina, hesperidina, quercetina), aceite esencia (limoneno, β -pineno), y vitamina C (Fernández - Cabal, *et al.*, 2025).

Los resultados demuestran que la infusión de hojas de naranja agria exhibe un efecto antiinflamatorio elevado y consistente en el rango de concentraciones evaluado. Asimismo, la formulación con Stevia mantiene niveles de actividad similares a la formulación sin Stevia, lo que sugiere que ambos componentes pueden contribuir de manera complementaria al efecto observado.

9.9 Actividad hemolítica

Los resultados evidenciaron un comportamiento claramente dependiente de la concentración en la actividad hemolítica. Las infusiones con Stevia mantuvieron valores mínimos (<3%) en todas las concentraciones, lo que sugiere un perfil de seguridad adecuado. En contraste, las formulaciones sin Stevia mostraron un incremento progresivo y significativo de hemólisis, pasando de valores bajos a 250 mg/mL hasta alcanzar aproximadamente 45% a 1000 mg/mL, que indica un posible efecto citotóxico asociado a

altas concentraciones de compuestos extraídos de la hoja de naranja agria cuando no eiste un efecto modulador.

De acuerdo con Elizondo - Luevano, *et al.*, (2024), realizó un estudio sobre “Evaluación *in vitro* de los efectos antihemolíticos y citotóxicos de extractos de plantas medicinales tradicionales mexicanas en eritrocitos humanos y cultivos celulares.”, Los efectos hemolíticos sobre los glóbulos rojos humanos revelaron valores de IC₅₀ que oscilaban entre 182.87 mg/mL (*A. adtringens*) y más de 1500 mg/mL (*S. mexicanum*, *J. spicigera*, *M. tenuiflora*, *P. peltatum* y *P. obtusifolium*). En general, los extractos con alto contenido en fenólicos y flavonoides mostraron baja hemólisis hasta concentraciones relativamente altas, o en algunos casos los extractos presentaron actividad anti-hemolítica (es decir, protegían contra agentes oxidantes).

9.10 Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa

Los resultados evidencian una clara relación dosis – respuesta en la inhibición de α -amilasa. A 250 mg/mL ambas formulaciones mostraron inhibiciones mínimas (<5%), sin diferencias entre tratamientos. A 500 mg/mL la actividad aumentó moderadamente, siendo mayor en la infusión sin stevia. Sin embargo, a 750 mg/mL la formulación con Stevia presentó un incremento marcado (88 – 90%), significativamente superior a la sin Stevia (20– 25%). A 1000 mg/mL ambas alcanzaron los valores máximos (80 – 90%), confirmando que el aumento en la concentración de hoja potencia la actividad inhibitoria. La Stevia sola no mostró inhibición relevante, aunque en combinación pareció potenciar el efecto en concentraciones intermedias y altas.

En un estudio de Benayad, *et al.*, (2021), los extractos del *Citrus aurantium* (cáscara) mostraron inhibición elevada de α -amilasa (y α -glucosidasa) en concentraciones de 0.5 a 1 mg/mL, con inhibiciones en el rango de 60 – 90%, aunque ellos trabajaron con cáscara y con distintos solventes, ese tipo de resultados respalda que *C. aurantium* posee compuestos capaces de inhibir α -amilasa.

Por otro lado Hameed, *et al.*, (2024) reportó que el extracto acuoso de Stevia rebaudiana exhibió una alta inhibición de α -amilasa con un valor de IC₅₀ de 8.63 μ g/mL, lo

cual es muy potente para concentraciones pequeñas. Esto nos sugiere que la stevia por sí misma posee una fuerte capacidad inhibitoria de α -amilasa.

En un trabajo publicado en 2023, se optimizó la actividad de inhibición de α -amilasa en una mezcla de té negro con stevia; los autores reportan que la stevia tiene un efecto directo y positivo sobre la capacidad de inhibir la α -amilasa, mientras el té negro por sí solo tiene un efecto inverso (Wibawa Budianta & Utomo, 2023).

9.11 Determinación de pH y acidez titulable

Los valores de pH en ambas formulaciones se mantuvieron ligeramente ácidos (5.2–5.9) en todo el rango evaluado. A 250 mg/mL, la infusión con Stevia presentó un pH significativamente mayor (menor acidez) que la formulación sin Stevia; en 500 y 750 mg/mL no hubo diferencias, y a 1000 mg/mL ambas mostraron una ligera disminución del pH. La Stevia sola presentó un pH más alto (~6.3), confirmando que la acidez del producto final proviene principalmente de los ácidos orgánicos de la hoja de naranja agria.

En cuanto a la acidez titulable, se observó un incremento significativo conforme aumentó la concentración de hoja, mostrando una relación inversamente proporcional al pH. En 750 y 1000 mg/mL, la formulación sin Stevia presentó valores de acidez mayores que la con Stevia, lo que sugiere un posible efecto modulador del edulcorante. La Stevia sola mostró baja acidez, indicando que su contribución es limitada frente a la matriz vegetal.

En el estudio sobre la evaluación del potencial de erosión de catorce bebidas comerciales mediante la medición del pH y la determinación de la acidez titulable, aplicada al mercado brasileño, indicaron que encontraron que los tés listos para tomar presentaron pH entre 2.89 y 4.03, con una acidez titulable relativamente elevada, mientras que los tés preparados mostraron pH más alcalinos (6.75 a 7.89) y no se les midió la acidez titulable por estar por encima de pH 7 (Barac, *et al*, 2023).

En el artículo de revisión sobre las bebidas herbales tradicionales: propiedades, fisicoquímicas, fitoquímicas y farmacológicas (2023), se menciona que las bebidas herbales pueden mostrar variaciones de pH y acidez titulable según la composición de ácidos

orgánicos, presencia de sales, compuestos fenólicos y capacidad buffer interna (Shaik *et al.*, 2023)

9.12 Determinación de Taninos

Los resultados muestran un efecto dependiente de la concentración y de la formulación sobre el contenido de taninos. A 250 y 500 mg/mL, la infusión con stevia presentó valores ligeramente mayores que la sin Stevia. Sin embargo, a 750 y 1000 mg/mL la formulación sin Stevia mostró un incremento marcado, alcanzando los valores máximos, mientras que la infusión con Stevia se mantuvo significativamente por debajo. La Stevia sola registró contenidos bajos, lo que confirma que no es una fuente relevante de taninos y que, a concentraciones altas, su presencia podría ejercer un efecto atenuante en la cuantificación de estos compuestos.

Los valores de taninos medidos en este estudio (0.05 – 0.30 mg EC/g ms) son relativamente bajos si los comparamos con valores de taninos en otros té bien estudiados cuando se usan hojas de *Camellia sinensis* u otros extractos concentrados, que en algunos casos llegan a porcentajes de materia seca o mg/g más altos. Por ejemplo, el estudio del té de la plantación de Dikatoru, *et al.*, (2024), reportaron un contenido de taninos en hojas de té de 7.095% (w/w) en hoja seca.

9.13 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial mostró que la mayoría de los tratamientos obtuvieron puntuaciones intermedias (5 – 6) en olor y color, con baja variabilidad entre formulaciones, lo que indica que la concentración de hoja y la adición de Stevia no modificaron de forma marcada estos atributos. En contraste, el sabor presentó mayor dispersión, sugiriendo que los cambios en concentración y la presencia del edulcorante influyeron principalmente en la percepción gustativa. No obstante, no se observaron diferencias significativas en aceptación general, lo que indica buena tolerancia sensorial en todo el rango estudiado.

En 2020, un estudio realizado por Wibawa *et al.*, nos menciona que evaluaron mezclas de té negro con Stevia para determinar los umbrales de aceptación de amargo y dulce. En este trabajo, la concentración óptima fue aquella en la que se equilibraba la percepción dulce de Stevia con el amargo inherente presente en el té debido a los

fenoles/taninos. Este estudio nos sugiere que la inclusión de Stevia puede afectar la percepción gustativa al introducir notas dulces y, al mismo tiempo causar un regusto amargo (propio de los glucósidos de Stevia).

En el artículo sobre las “Propiedades antioxidantes y sensoriales de infusiones de hoja seca de moringa (*Moringa stenopetala*) y Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)”, se exploró la aceptación sensorial de infusiones herbales con diferentes porciones de Stevia. Se encontró que las mezclas de Stevia podían obtener puntajes aceptables de sabor, color y aroma, aunque el exceso de Stevia penalizaba el sabor por regusto amargo (Kinki, Mezgebe, & Lema, 2020).

Este estudio es coherente con el atributo “sabor” ya que presenta mayor variabilidad: si las mezclas con mayores concentraciones de Stevia empiezan a introducir regustos, los panelistas manifestarían más dispersión en puntuaciones de sabor.

En un trabajo reciente sobre la Formulación y caracterización de infusiones de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) y verbena de limón (*Aloysia citrodora*) (2024,) los autores realizaron evaluación sensorial con escala hedónica de 7 puntos para atributos como sabor, color, aroma y aceptabilidad general. Encontraron diferencias significativas entre formulaciones, especialmente en sabor y aroma, mientras que el color era relativamente estable entre combinaciones (Atlaw, *et al.*, 2024). Esto coincide con la gráfica, en la que el color es quizás el atributo menos diferenciado.

X. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La adición de *Stevia rebaudiana* a infusión de hojas de *Citrus aurantium* ejerció un efecto regulador significativo sobre el perfil fenólico, particularmente incrementando el contenido de ácido clorogénico y de flavonoides en concentraciones bajas. La capacidad antioxidante mostró un comportamiento dependiente de la concentración alcanzando niveles máximos en concentraciones elevadas sin diferencias entre formulaciones.

La actividad antiinflamatoria presentó valores altos en todas las concentraciones evaluadas, independientemente de la presencia de Stevia. No obstante, la adición de este edulcorante natural confirió un efecto protector frente a la hemólisis, evidenciando un perfil de seguridad superior respecto a la formulación sin Stevia.

La inhibición significativa de la α – amilasa en concentraciones intermedias y altas sugiere un potencial efecto cooperativo con implicaciones en el control glucémico. En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, la Stevia moduló favorablemente la acidez y elevó el contenido de azúcares totales, sin alterar pH ni color.

Desde el punto de vista sensorial, la incorporación de Stevia incrementó la aceptabilidad de la infusión sin alterar desfavorablemente sus características de aroma y color. En conjunto, los resultados obtenidos sugieren que la formulación posee características propias de una bebida funcional, debido a su contenido de compuestos bioactivos y a las actividades antioxidante, antiinflamatoria y antidiabética observadas *in vitro*. Sin embargo, son necesarios estudios complementarios para determinar el alcance de sus efectos biológicos y su posible aplicación en la promoción de la salud.

Para el estudio en cuestión se recomienda ampliar estudios *in vivo* para confirmar los efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antidiabéticos observados *in vitro*. Para profundizar en la interacción química entre glicósidos de Stevia y metabolitos fenólicos de *C. aurantium* se pueden realizar técnicas avanzadas de metabolómica. Así como la exploración de la influencia de diferentes proporciones hoja – Stevia en la aceptación sensorial y en la estabilidad de los metabolitos bioactivos.

De igual manera se podría evaluar la vida útil del producto en condiciones de almacenamiento, considerando variaciones en pH, color y estabilidad de compuestos fenólicos. Así como ampliar la investigación hacia otras aplicaciones funcionales del té de *Citrus aurantium* con stevia, incluyendo su impacto en la microbiota intestinal y en biomarcadores metabólicos, considerando así la estandarización de procesos de secado y extracción para optimizar la conservación de compuestos bioactivos y la reproducibilidad de resultados.

XI. REFERENCIAS

- Adbela, B., Abadi, G., & Tesfu, B. (2021). Propiedades antioxidantes y sensoriales de los tés de hierbas formulados a partir de hojas secas de moringa (*Moringa stenopetala*) y stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Food Science & Nutrition Technology*.
- Aguilar, A. (2020). *Té de hojas de naranjo: ¿Cuáles son sus propiedades medicinales?* Gastrolab. <https://www.gastrolabweb.com/bebidas/2020/8/20/te-de-hojas-de-naranjo-cuales-son-sus-propiedades-medicinales-1568.html>
- Alemu, T. T., Abdullahi, M. A., Abamecha, N., & Hamza, M. (2025). Contribution of nutritional and bioactive components of tea leaves in management of non-communicable chronic diseases: a comprehensive review. In *Discover Food* (Vol. 5, Number 1). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/s44187-025-00456-w>
- Arellano, L. (2021). *Actividad antimicrobiana del extracto vegetal de Stevia rebaudiana Bertoni*.
- Asociación Guatemalteca de Exportadores. (2020). *Petit Grain, Citrus X aurantium CONTENIDO*.
- Atlaw, T., Befu Kinki, A., Belay, D., Meiso, B., Haile, T., & Wei, R. C. (2024). Formulación y caracterización de infusiones de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) y verbena de limón (*Aloysia citrodora*). *CyTA Journal of Food*, <https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2351913>.
- Ávila Núñez, R., Rivas Pérez, B., Motzezak, R. H., & Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease Content of total, Reducing and Non-Reducing Sugars in Agave cocui Trelease. *MULTICIENCIAS*, 12, 129–135.
- Barac, R., Popovic, J., Nikolic, M., Mitic, A., Sunaric, S., Petrovic, M., . . . Buric, N. (2023). Evaluación del potencial de erosión de cartoce bebidas comerciales mediante la

- medición del pH y la determinación de la acidez titulable. *Acta Medica Medianae*, 24 - 31.
- Benayad, O., Bouhrim, M., Tiji, S., Kharchoufa, L., Addi, M., Drouet, S., . . . Mimouni, M. (2021). Perfil fitoquímico, potencial de inhibición de la α -glucosidasa y la α -amilasa y evaluación de la toxicidad de los extractos de la cáscara de *Citrus aurantium* (L), un valioso subproducto del noreste de Marruecos. *Biomolecules*, <https://doi.org/10.3390/biom11111555>.
- Bhattacharya, T., & Jagannath Lakade, A. (2025). THE ROLE OF HERBAL TEA IN FUNCTIONAL FOODS: A COMPREHENSIVE REVIEW OF HEALTH BENEFITS AND APPLICATIONS. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 16(7), 1906–1913. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.16\(7\).1906-13](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.16(7).1906-13)
- Bodor, Z., Benedek, C., Urbin, Á., Szabó, D., & Sipos, L. (2021). Colour of honey: can we trust the Pfund scale? – An alternative graphical tool covering the whole visible spectra. *LWT*, 149. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111859>
- Camba Ramirez, W. E., Petroche Torres, D. J., Cortez Suarez, L. A., & Mariscal Santi, W. E. (2022). Tamizaje fitoquímico, fenoles totales y actividad antioxidante de *Citrus aurantium*. *RECIAMUC*, 6(3), 470–479. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.470-479](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.470-479)
- Cañigüeral, S., Dellacassa, E., & Bandoni, A. L. (2019). Plantas Medicinales y Fitoterapia. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 22(3), 265–278.
- Castañeda Saucedo, M. C., Ramírez Anaya, J. d., Tapia Campos, E., & Díaz Ochoa, E. G. (2020). Comparación del contenido total de fenoles y la actividad antioxidante de infusiones de hierbas con *Stevia rebaudiana* Bertoni añadida. *Food Science and Technology*, 117 - 123.
- Centro Nacional de la Medicina Popular Tradicional de Nicaragua. (2019). *Clasificación Científica: Naranja Agria*. Isnaya.Org.In.

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2023). *Plantas medicinales*. Biodiversidad Mexicana.

De la Cruz-Castillo, A., & Mostacero-León, J. (2019). Use of medicinal plants for the cure of diseases and/or ailments: The case of the villager from the province of Trujillo, Peru. *Manglar*, 16(2), 119–124. <https://doi.org/10.17268/manglar.2019.017>

Diario Oficial de la Federación. (2016). *Reglamento de control sanitario de productos y servicios*.

Díaz - García, A., Salvá - Ruiz, B. K., Giusti, M. M., Silvia - Jaimes, M., Bautista - Cruz, N., Hernández, L. K., . . . Condezo - Hoyos, L. (2025). Estabilidad de almacenamiento de un té antioxidante preparado a partir de mazorcas de maíz morado (*Zea mays* L.) y stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) y sus efectos sobre los biomarcadores del estrés oxidativo en personas sanas. *Food Res Int.*, 10.1016/j.foodres.2025.116982.

Díaz, R., Madera, T., Meléndez, R., Felician, A., Sánchez, J. N., Sánchez, A., Torrescano, G. R., & Rosales, .E. (2018). *Composición y actividad antioxidante de extractos de cáscara de papa esterilizados con autoclave e irradiación*. <http://biotecnia.unison>.

Dikatoru, R., Widayanti, E., & Ikayanti, R. (2024). Análisis del contenido de cafeína, taninos y fenoles totales en las hojas de té de la plantación Sirah Kencong Blitar. *Indonesian Journal of Chemical Research*, 129 - 135.

Eldashan, O. A., Salwa , B., Rawan M., A., Mahmoud A. , E., Gokhan , Z., Ahmed T., N., . . . Nada M., M. (Junio de 2025). Efectos metabólicos, antioxidantes e inhibidores de enzimas de los frutos de *Citrus aurantium*. *Frontiers in Chemistry Vol. 13*, <https://doi.org/10.3389/fchem.2025.1613827>. Obtenido de <https://doi.org/10.3389/fchem.2025.1613827>

Elizondo - Luevano, J. H., Quintanilla - Licea, R., Castillo - Hernández, S. L., Sánchez - García, E., Bautista - Villareal, M., González - Meza, G. M., . . . Kačániová, M. (2024). Evaluación in vitro de los efectos antihemolíticos y citotóxicos de extractos

- de plantas medicinales tradicionales mexicanas en eritrocitos humanos y cultivos celulares. *Life*, <https://doi.org/10.3390/life14091176>.
- Escales, C., & Massot, D. (2019). *El gran libro del té*. RBA Libros.
- Fernández - Cabal, J., Avilés - Betanzos, K. A., Cauich - Rodríguez, J. V., Ramírez - Sucre, M. O., & Rodríguez - Buenfil, I. M. (2025). Avances recientes en *Citrus aurantium* L.: una visión general de los compuestos bioactivos, las técnicas de extracción y las aplicaciones tecnológicas. *Processes*, <https://doi.org/10.3390/pr13010120>.
- Formulario Nacional de Medicamentos de Cuba. (2019). *Naranja Agria: Beneficios, usos y sus propiedades*. Directorio Cubano.
- García-Candela, J., Pariona-Velarde, C., & Londoño-Bailon, R. (2017). Actividad antiinflamatoria in vitro de los polisacáridos sulfatados de *Patallus mollis* extraídos mediante digestión enzimática. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, (2415–2692), 759–764.
- Gayosso-Rodríguez, S., Sánchez-Hernández, R., Estrada-Botello, M. A., & Lázaro-Díaz, A. (2023). Enmiendas orgánicas en el crecimiento de *Stevia rebaudiana* en Tabasco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 14(3), 425–435. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i3.3135>
- Hameed, A., Ashraf, F., Junaid Anwar, M., Amjad, A., Hussain, M., Imran, M., . . . Al Jbawi, E. (2024). Inhibición de la enzima α -amilasa relevante para la diabetes tipo II mediante el uso de yogur funcional con *Cinnamomum verum* y *Stevia rebaudiana*. *Food and Agriculture Immunology*, <https://doi.org/10.1080/09540105.2024.2389091>.
- Horacio, S., Maldonado, G., Díaz Huacuz, R. S., & González Chavira, M. M. (2017). *Plantas medicinales la realidad de una tradición ancestral*.
- Howlader, M, M. S., Ahmed, S. R., Kubra,, K., & Bhuiyan,, M. K. (2016). Biochemical and phytochemical evaluation of *Stevia rebaudiana*. . *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 121 - 130.

- Huang, Y., & Xu, G. (2025). Anti-Inflammatory Properties of Tea: A Research Insight. *Journal of Tea Science Research*. <https://doi.org/10.5376/jtsr.2025.15.0004>
- Instituto Nacional de Investigación Forestal, A. y P. (2020). *Plantas medicinales, tradición ancestral*. Gobierno de México.
- Jakabová, S., Árvay, J., Šnirc, M., Lakatošová, J., Ondejčíková, A., & Golian, J. (2024). HPLC-DAD method for simultaneous determination of gallic acid, catechins, and methylxanthines and its application in quantitative analysis and origin identification of green tea. *Heliyon*, 10(16). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35819>
- Khilar, S., Pal Singh, A., Biagi, M., & Sharma, A. (2022). Una visión general de las propiedades de la Stevia rebaudiana Bertoni: avances recientes en técnicas de extracción, fitoquímica, aplicaciones alimentarias y beneficios para la salud. *Journal of Agriculture and Food Research*, <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100458>.
- Kinki, A., Mezgebe, A., & Lema, T. (2020). Antioxidant and Sensory Properties of Herbal Teas Formulated from Dried Moringa (*Moringa Stenopetala*) and Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni*) Leaves. *Food Science and Quality Management*. <https://doi.org/10.7176/fsqm/102-01>
- Li, Z., Chen, Y., Qiu, X., Du, T., Zhu, M., Wang, M., . . . Xiao, S. (2023). Recent advances in the biological activity of chlorogenic acid and its application in the food industry. *International Journal of Food Science and Technology*, 4931 - 4947.
- López Nahuatt, G., Sumaya Martínez, M. T., Jiménez Ruiz, E. I., Sánchez Herrera, L. M., Bautista Rosales, P. U., Medina Carrillo, R. E., & Guzmán Ceferino, J. (2020). Actividad hemolítica, antimicrobiana y antioxidante de extractos acuosos de cálices de jamaica. *Revista Bio Ciencias*, 7. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e995>
- López-Martínez, L., Agilar Cisneros, L., & Dublán-García, O. (2014). Actividad antioxidante e inhibidora de β -glucosidasa y α -amilasa de tres variedades de cebolla (*Allium cepa* L.). *Nova Scientia*, 6, 234–247.

- Macías - Martínez , B. I., Cortés - Hernández, D. A., Zugasti - Cruz, A., Cruz - Ortiz , B. R., & Múzquiz - Ramos, E. M. (2016). Ensayo de capacidad de calentamiento y hemólisis de nanopartículas de magnetita obtenidas mediante un método simple de coprecipitación. *Journal of applied research and technology*, 239 . 244.
- Maldonado, C., Paniagua, N., Bussmanns, R. W., Zenteno Freddy S., & Fuentes, A. F. (2020). La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). *Ecología En Bolivia*, 55(1), 1–5.
- Mejri H, Aidi Wannes, W., Mahjoub F., H., Hammami , M., Dussault, C., Legault, J., & Saidani - Tounsi, M. (2023). Propiedades biofuncionales potenciales de la hojas de *C. aurantium* L.: composición química, actividad antiviral sobre el virus del herpes simple tipo 1, efectos antiproliferativos sobre células cancerosas de pulmón y colon humanos y protección oxidativa. *International Journal of Environmental Health Research*, 1113 - 1123.
- Mendoza, P. A. (2021). *Stevia rebaudiana, usos, propiedades y beneficios*. Encolombia.Com.
- Mex-Álvarez, R. M. de J., Guillen-Morales, M. M., & Ceh-Ac, C. A. (2022). Microtitulación para la determinación de la acidez titulable de tés (*Camellia sinensis*). *RIDE Revista Iberoamericana Para La Investigación y El Desarrollo Educativo*, 12(24). <https://doi.org/10.23913/ride.v12i24.1138>
- Mlambo, R., Wang, J., & Chen, C. (2022). *Stevia rebaudiana*, un ingrediente alimentario versátil: composición química y propiedades medicinales. *Journal of Nanomaterials*, <https://doi.org/10.1155/2022/3573005>.
- Montagu, J. (15 de abril de 2022). *Los increíbles beneficios de la naranja amarga en tu salud*. Obtenido de Alimentate: https://www.alimente.elconfidencial.com/nutricion/2022-04-15/los-beneficios-de-la-naranja-amarga-en-tu-salud_3023520/
- Montero, I. (2020). *Evaluación microbiológica, físico-química y sensorial en la elaboración de una bebida energética con té verde, té negro y guayusa*.

- Muniandy, P., Shori, A. B., & Baba, A. S. (2016). Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 8, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.02.002>
- Papaefthimiou, M., Kontou, P. I., Bagos, P. G., & Braliou, G. G. (2024). La actividad antioxidante de los extractos de hojas de Stevia rebaudiana Bertoni ejerce un efecto atenuante en ratas experimentales enfermas: una revisión sistemática y un metaanálisis. *Antioxidants*, <https://doi.org/10.3390/antiox13060692>.
- Prieto, N., Pérez, J. M., Turrado, I., Alonso, S., & Rodríguez, J. M. (2019). Origen del empleo de las plantas medicinales. In *XXV Congreso Nacional y XVI Congreso Iberoamericano de Historia de la Veterinaria* (pp. 241–245).
- Puig Moliner, C., Fonta de la Fuente, A., Cerdá Peraire, M., & Folch Ayora, A. (2020). Consumo de té y cáncer. Revisión sistemática metaanálisis. *Àgora de Salut*, (7), 267–276. <https://doi.org/10.6035/agorasalut.2020.7.27>
- Safaya. (2021). *Guía Safaya del Té*.
- Salas, N., & Basilio, J. (2022). Optimización por superficie de respuesta del secado por lecho fluidizado de hojas de *Citrus aurantifolia* L. (Limón sutil).
- Salar J., F., Agulló, V., Domínguez Perles, R., & Gacía Viguera, C. (2022). Influencia de los edulcorantes (sacarosa, sucrolo y stevia) en los compuestos bioactivos en un estudio de sistema modelo para bebidas de cítricos y maqui. *Foods Vol. 11*, <https://doi.org/10.3390/foods11152266>.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2021). *Plantas medicinales de México*. Gobierno de México.
- Shaik, M. I., Hamdi, I. H., & Sarbon, N. M. (2023). Una revisión exhaustiva sobre las bebidas herbales tradicionales: propiedades fisicoquímicas, fitoquímicas y farmacológicas. *Food Chemistry Advances*, <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100460>.

- Shukla, S., Mehta, A., Mehta, P., & Bajpai, V. K. (2012). Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(7–8), 807–811. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2011.02.002>
- Simlat, M., Ptak, A., Wójtowicz, T., & Szewczyk, A. (2023). El contenido de compuestos fenólicos en plantas de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) derivadas de semillas tratadas con melatonina y NaCl. *Plants*, <https://doi.org/10.3390/plants12040780>.
- Sinuhaji br, A. K., Darmayanti Trisna, L. P., & Yusasrini Ari, N. L. (2023). El efecto de la adición de hojas de stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) sobre las características del té de bolsita de hierbas de cúrcuma blanca (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). *ITEPA*, <https://doi.org/10.24843/itepa.2023.v12.i03.p01>.
- Taco, M., & Morales, D. (2023). *Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria de un té elaborado a partir de cuatro plantas medicinales del Ecuador*.
- Valencia, M. del C., López, M. del R., García, M. de J., Del Rosario, S. G., & Valencia, L. O. (2021). *El tamizaje fitoquímico de la naranja agria (Citrus Aurantium L.), Estrategia para su valoración por los estudiantes de la carrera en Químico*.
- Villarreal_Ibarra, E. C., Cadenas-González, M. T., Méndez- Morales, F., Bolio-López, G. I., Hernández-Villegas, M. M., Rivera- López, N. E., Almenares-López, D., & Rivas Morales, C. (2023). Validación del potencial antioxidante de *Citrus aurantium* en Tabasco, México. *Revista de Investigaciones Universidad Del Quindío*, 35(1), 248–259. <https://doi.org/10.33975/riuq.vol35n1.1157>
- Wibawa Budianta, T. D., & Utomo, A. R. (2023). Optimización de las propiedades antidiabéticas de la infusión de té negro con *Stevia*. *International Advanced Research Journal in Science*, 613 - 618.
- Wibawa Budiantra, T. D., Rulianto Utomo, A., & Joko Raharjo, S. (2020). Evaluación sensorial de té negro preparado (*Camellia sinensis* sp.) y hojas de stevia (*Stevia rebaudiana* Bert). Caso práctico: Prueba de preferencia del consumidor sobre el

- umbral de amargor fenólico. *International Advanced Research Journal in Science, Engineering and Technology*, 74 - 81.
- Xiao, Y., Fu, F., Wei, Y., Shi, S., & Shan, Y. (2022). Sistema de extracción en línea-DPPH-HPLC-DAD-QTOF-MS para la detección e identificación eficientes de antioxidantes de *Citrus aurantium* L. var. amara (Rutaceae): integración de la preparación de muestras y el perfil de antioxidantes. *Antioxidants*, <https://doi.org/10.3390/antiox11051014>.
- Yue, F., Zhang, J., Xu, J., Niu, T., Lü, X., & Liu, M. (2022). Efectos de la composición de monosacáridos en el análisis cuantitativo del contenido total de azúcar mediante el método del ácido fenol-sulfúrico. *Frontiers in Nutrition*, 10.3389/fnut.2022.963318.
- Zaidan, U. H., Mohamad Zen, N. I., Amran, N. A., Shamsi, S., & Gani, S. S. A. (2019). Biochemical evaluation of phenolic compounds and steviol glycoside from *Stevia rebaudiana* extracts associated with in vitro antidiabetic potential. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101049>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555–559.

XII. ANEXO

Acervo fotográfico

Figura 26. Acondicionamiento de materia prima (hojas de naranja agria).



Nota. La selección de las hojas se siguieron los siguientes criterios de apariencia: sin manchas, sin insectos y de un color verde brillante.

Figura 27. Secado de hojas de naranja agria



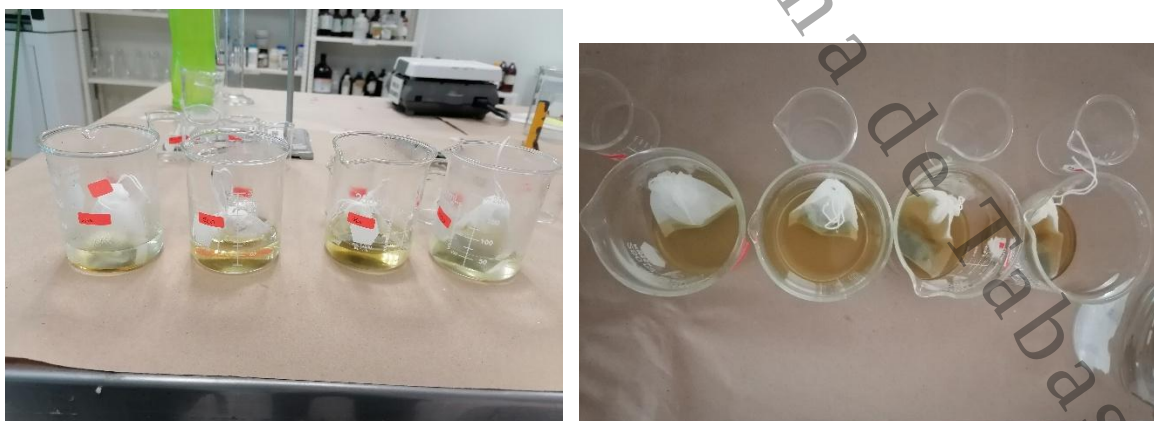
Nota. Del lado izquierdo se observan las hojas frescas antes de pasar por el proceso de secado, del lado derecho se observa la hoja ya seca, esta presenta cambios de color y una textura mas roñosa.

Figura 28. Molienda y tamizado de hojas de naranja agria



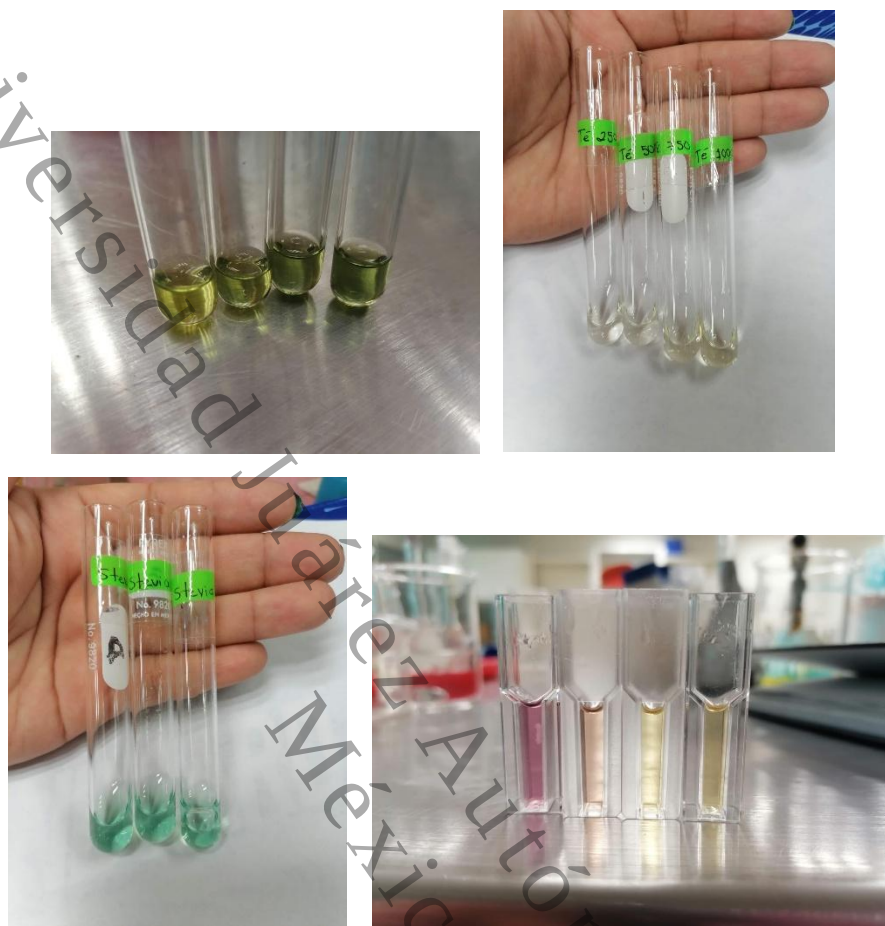
Nota. Las hojas se molieron en un molino marca Hamilton Beach, una vez molidas las hojas se procedió a tamizar con un número de malla de 60 y 100 mm de abertura.

Figura 29. Elaboración del té



Nota. Se realizaron colocando el producto en unas sobres de tela para té, posteriormente se agregó agua a 100°C para dejar reposando 10 minutos y obtener la mayor cantidad de concentrado.

Figura 30. Resultados de análisis antioxidantes (Polifenoles, Acido clorogénicos, ABTS Y DPPH)



Nota. Se observan las coloraciones de los análisis antioxidantes realizados a las muestra

Figura 31. Determinación de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)



Nota. Se observa la coloración obtenida tras realizar el análisis de las muestras.

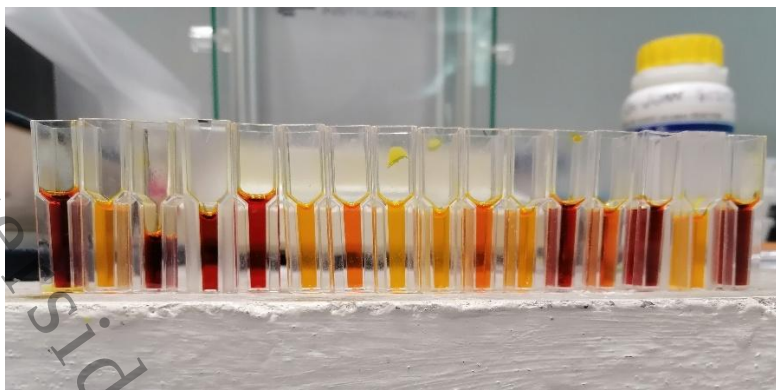
Figura 32. Determinación de azúcares totales.



Nota. Se observa la coloración obtenida al realizar el análisis a las muestras, se observan colores ámbar variando su intensidad, de igual manera se observa la realización de las lecturas de los resultados.

Figura 33. Determinación de la actividad inhibitoria de la enzima α - amilasa





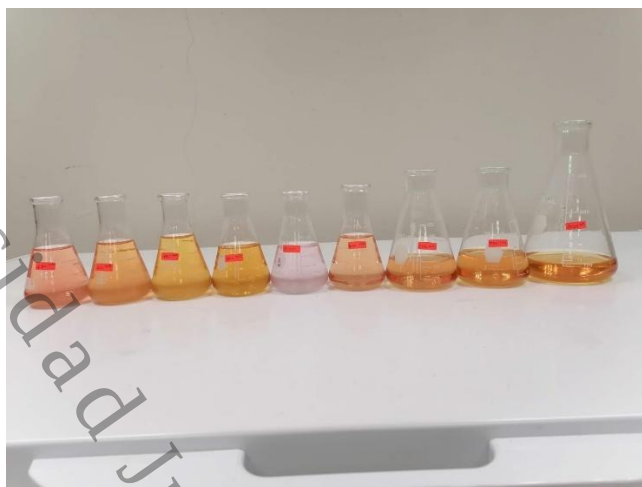
Nota. Se observan las coloraciones obtenidas del análisis de las actividad antidiabética de las muestras, se observan colores intensos y brillantes.

Figura 34. Actividad hemolítica



Nota. Se observa el lavado realizado a la sangre obtenida para poder emplear solo los eritrocitos.

Figura 35. Determinación de acidez titulable.



Nota. Se observan las coloraciones obtenidas de las muestras con las diferentes concentraciones, observándose así colores entre rosa y naranjas.

Figura 36. Evaluación sensorial



Nota. Aplicación de la evaluación sensorial, se observa el té en cuestión y se dio a degustar en las presentaciones de té con hojas de naranja agria con Stevia y té con hojas de naranja sin Stevia.

ESPERANZA CRUZ REYES

**PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y BIOACTIVAS DE UN TÉ DE
HOJAS DE NARANJA AGRIA (Citrus aurantium) ENDULZADO ...**



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:578454046

Fecha de entrega

14 abr 2026, 10:14 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

14 abr 2026, 10:18 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

Esperanza Cruz Reyes - 2ª Revisión de Tesis.docx

Tamaño del archivo

1.4 MB

90 páginas

20.771 palabras

115.421 caracteres

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
JEFATURA DE ESTUDIOS TERMINALES

11% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 20 palabras)

Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 2%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Alojamiento de La Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis:	PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y BIOACTIVAS DE UN TÉ DE HOJAS DE NARANJA AGRIA (<i>Citrus aurantium</i>) ENDULZADO CON STEVIA (<i>Stevia rebaudiana</i>)
Autor de Tesis:	Esperanza Cruz Reyes
ORCID	https://orcid.org/0009-0002-0755-1094
Resumen de la Tesis:	El presente estudio evaluó el efecto de la adicción de <i>Stevia rebaudiana</i> en las propiedades fisicoquímicas, antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas, así como parámetros fisicoquímicos (pH, acidez titulable, azúcares totales y color) y sensoriales de infusiones elaboradas a partir de hojas de <i>Citrus aurantium</i>. Se prepararon extractos acuosos a diferentes concentraciones de materia vegetal. Los resultados demostraron que la adición de Stevia potenció, en la mayoría de los casos, el contenido fenólico (4.8 mg EAG/g ms té con Stevia y 4.2 mg EAG/G ms sin Stevia), y flavonoides (valores entre 2.8 – 3.5 mg EC/g ms), además de mejorar la capacidad antioxidante (1.42 mmol Fe²⁺/L con Stevia y 1.37 Fe²⁺/L sin Stevia) y reducir la actividad hemolítica, sugiriendo un efecto protector. Asimismo, se observó una elevada actividad antiinflamatoria en todas las formulaciones y un incremento significativo en la inhibición de α-amilasa (>90% con Stevia y 25.80% sin Stevia) en las infusiones con Stevia, lo que indica un potencial efecto antidiabético. En cuanto a las propiedades fisicoquímicas, la Stevia reguló la acidez y contribuyó a un perfil neutro del producto (pH entre 4.2 – 5.0), mientras que sensorialmente mejoró la aceptabilidad del sabor en concentraciones bajas e intermedias, sin alterar significativamente el aroma ni el color. En conjunto, los hallazgos confirman el potencial de las infusiones de <i>Citrus aurantium</i> con Stevia como una bebida funcional natural con aplicaciones en la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo y metabólico.
Palabras claves de la tesis	Naranja agria, <i>Stevia rebaudiana</i> , contenido polifenolico, antioxidantes, infusión.
Referencias citadas	Adbela, B., Abadi , G., & Tesfu, B. (2021). Propiedades antioxidantes y sensoriales de los tés de hierbas formulados a partir de hojas secas de moringa (<i>Moringa stenopetala</i>) y stevia (<i>Stevias rebaudiana</i> Bertoni). <i>Food Science & Nutrition Technology</i>. Aguilar, A. (2020). <i>Té de hojas de naranjo: ¿Cuáles son sus propiedades medicinales?</i> Gastrolab. https://www.gastrolabweb.com/bebidas/2020/8/20/te-de-hojas-de-naranjo-cuales-son-sus-propiedades-medicinales-1568.html Alemu, T. T., Abdullahi, M. A., Abamecha, N., & Hamza, M. (2025). Contribution of nutritional and bioactive components of tea leaves in management of non-communicable chronic diseases: a comprehensive review. In <i>Discover Food</i> (Vol. 5, Number 1). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/s44187-025-00456-w Arellano, L. (2021). <i>Actividad antimicrobiana del extracto vegetal de Stevia rebaudiana Bertoni</i>.