



Revista MINERVA

Plataforma digital de la revista: <https://minerva.sic.ues.edu.sv>



Capacidad antioxidante y contenido de cafeína en Cafés especiales de El Salvador

Antioxidant capacity and caffeine content in specialty coffees from El Salvador

Ulises G. Castillo¹, Edgar Aldair Joachin¹, Morena L. Martínez¹, Ernesto Velásquez², Lily Pacas², Marvin J. Núñez¹

Correspondencia:
marvin.nunez@ues.edu.sv

Presentado: 6 de abril de 2021
Aceptado: 15 de mayo de 2021

1 Laboratorio de Investigación en Productos Naturales, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador
2 Consejo Salvadoreño del Café, El Salvador

RESUMEN

El café es una de las bebidas más populares a nivel mundial, y en El Salvador, representa uno de los cultivos más importantes durante muchos años, produciéndose una gran variedad de cafés especiales. En este estudio, se realizó la actividad antioxidante por el método de captura del radical DPPH, y la cuantificación por HPLC-PDA de cafeína en taza, de 12 cafés especiales salvadoreños que participaron en el certamen de catación "Taza de la Excelencia 2019". Se determinó que las muestras presentaban un rango de 0.121-0.281 mmoles equivalentes de Trolox (ET)/g de capacidad antioxidante. En cuanto al contenido de cafeína, reportó valores de 0.617-1.163%, típicos de la especie *Coffea arabica*.

Palabras claves: Café, El Salvador, *Coffea arabica*, HPLC-PDA, capacidad antioxidante, cafeína.

ABSTRACT

Coffee is one of the most popular beverages worldwide, and in El Salvador it has been one of the most important crops for years, producing a great variety of specialty coffees. In this study, it was carried out the antioxidant activity by the DPPH radical capture method and the quantification of caffeine in cups by HPLC-PDA, of 12 Salvadoran specialty coffees that participated in the cupping contest "Taza de la Excelencia 2019". It was determined that the samples contain an antioxidant capacity in a range of 0.121-0.281 mmol Trolox equivalents (ET)/g. Regarding caffeine content, it presented values between 0.617-1.163%, typical of the *Coffea arabica* species.

Keywords: Coffee, El Salvador, *Coffea arabica*, HPLC-PDA, caffeine, antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

El café es originario de Etiopía, luego fue llevado a Arabia, India, Holanda, los cuales importaron y aclimataron el “Cafeto” a Ámsterdam, París, Londres, desde donde pasó a Brasil, Centroamérica y otros Países (Vega et al., 2014). Ahora, el café es una de las bebidas más populares y consumidas a nivel mundial (Donfrancesco et al., 2014; Wichmann, 2009). La Organización Internacional del Café (ICO) reportó en noviembre de 2020 un total de exportaciones cercanas a 10.15 millones de sacos (60 kg/saco) y el precio indicativo por libra de café en el mes de enero de 2021 fue de 115.73 centavos estadounidenses (International Coffee Organization [ICO], 2020). En El Salvador, en el año 2019/2020 se reporta una producción de café de 740,100 quintales de café oro uva, siendo este cultivo uno de los más importantes en el país (Consejo Salvadoreño del Café [CSC], 2021).

También, en el país los cafés especiales han despertado mucho interés, debido a que son mejor valorados en mercados internacionales. Esto está ligado al contenido de numerosos compuestos químicos de interés en el café, los cuales le confieren características organolépticas y efectos beneficiosos para la salud, debido a su alto contenido en polifenoles y capacidad antioxidante (ICO, 2020; Patil, 2012). De hecho, el café se considera una fuente importante de antioxidantes, así como en estudios realizados en Noruega y Japón se demostró que el café aporta más del 50% del total de consumo diario de antioxidantes (Jiménez et al., 2012). Además, contiene cantidades considerables de cafeína, siendo esta una de las sustancias más conocida del café (Wichmann, 2009). La cafeína es un alcaloide de la familia de las metilxantinas, la cual actúa fundamentalmente en los receptores de adenosina localizados en el cerebro y produce

una activación del sistema nervioso central (Wichmann, 2009; Mumin et al., 2006).

La actividad antioxidante y la cantidad de cafeína presentes en el café han adquirido mucha importancia en la industria farmacéutica y de alimentos; esta última como ingrediente en la elaboración de refrescos y bebidas energéticas o por sus efectos farmacológicos (estimulante del sistema nervioso central, disminuir la fatiga, mejora la concentración, etc.) en una concentración cercana a 200 mg, por ende, su cuantificación es de suma importancia (Patil, 2012; Galignani et al., 2008). La presente investigación fue llevada a cabo con el objetivo de determinar la actividad antioxidante por el método DPPH (2,2'-difenil-1-picrilhidracilo), y la cuantificación de cafeína por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia con detector de arreglo de diodos (HPLC-PDA, siglas en inglés) presentes en 12 muestras de café especiales que participaron en el certamen “Taza de Excelencia 2019”. Siendo este el primer estudio de este tipo que se realiza en los cafés especiales en El Salvador.

METODOLOGÍA

Reactivos y solventes

Los solventes utilizados, metanol (grado HPLC), agua (ultra pura, conductividad 0.05 μ s) fueron adquiridos en Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA); cada uno de ellos fue desgasificado en un baño ultrasonido VWR (Modelo 97043-988) a temperatura ambiente (25°C) y pasados a través de un filtro de membrana de 0.45 μ m. El estándar de referencia de cafeína fue adquirido en Sigma-Aldrich (CAS: 58-08-2).

Obtención de las muestras y determinación de humedad

Doce muestras de cafés especiales (*Coffea*

arabica) de granos verdes recién tostados de diferentes variedades (Pacamara, Bourbon, Kenya y Bernardina), fueron obtenidas del concurso “Taza de la Excelencia 2019”, y procedentes de fincas cafetaleras de las Cordilleras Apaneca-Illamatepec, Tecapa-Chinameca y Alotepec-Metapán de El Salvador (CSC, 2019; Alliance for Coffee Excellence [ACE], 2019). A estas muestras se les asignó el mismo código del lugar obtenido en el concurso de catación. A estos cafés especiales se les determinó el porcentaje de humedad de acuerdo a la AOAC (Tabla 1) (Association of Official Analytical Chemists [AOAC], 2005).

Preparación de infusión de Café

Se colocaron 12.5 g de las muestras tostadas y molidas con 225 mL de agua ultra pura a 94.4°C por 5 minutos, equivalente a una relación de 0.055 g/ mL (Specialty Coffee Association [SCA], 2021), se filtró a través de papel Whatman N 91 y se concentró a sequedad en el Genevac EZ2-plus a 40°C. Los residuos fueron almacenados en desecador hasta peso constante, para su posterior análisis de su capacidad antioxidante y cuantificación de cafeína.

Determinación de la actividad antioxidante por método DPPH

La solución stock se preparó por dilución del DPPH en metanol para obtener una concentración de operación de 5 mM. Se diluyó la solución anterior con etanol hasta llegar a la concentración de trabajo 50 μ M en un volumen final de 30 mL. Se realizaron las lecturas a una longitud de onda de 515 nm, con un espectrofotómetro UV-Vis, modelo GENESYS 10S UV-Vis, este expresó los resultados en milimoles Equivalentes de Trolox por taza de bebida de café (12.5g/225 mL). Se hizo un análisis por triplicado a tres soluciones de cada muestra (Rivas et al., 2020).

Cuantificación de Cafeína por HPLC-PDA

La cuantificación de cafeína se llevó a cabo por medio de HPLC-PDA, a través de un Cromatógrafo Ultimate 3000 marca Dionex (Thermo Scientific, Alemania), equipado con un detector de arreglo de diodos (DAD3400SD), Bomba cuaternaria, un sistema de automuestreador, columna Hypersil GOLD (150mm x 4.6 mm, 5 μ m), control termostático a 30°C. El Volumen de inyección fue de 10 μ L. Los solventes utilizados fueron agua ultra pura (Solvente A) y metanol (solvente B). La longitud de onda de adquisición de PDA se estableció en el rango de 200-400 nm, el canal de salida analógica A, a una longitud de onda de 274 nm. Se realizó una elución isocrática durante todo el análisis a 1 mL/min con 60 % de A y 40 % de B. Todas las soluciones preparadas fueron pasadas por un filtro de membrana de 0.45 μ m y la fase móvil fue desgasificada antes de la inyección en el HPLC. Cada muestra fue analizada por triplicado. El método fue validado de acuerdo a los lineamientos dictados por la Conferencia Internacional sobre Armonización Q2 (R1) (International Conference on Harmonisation [ICH], 2005). Los parámetros tomados en cuenta fueron: linealidad, selectividad, repetibilidad, precisión intermedia, exactitud y precisión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las infusiones de café fueron preparadas y sometidas a un análisis sensorial con catadores certificados (Tabla 1). Todo esto de acuerdo a los procedimientos propios del concurso “Taza de la excelencia 2019” de El Salvador y estándares de calidad establecidos por SCAA (CSC, 2021; Specialty Coffee Association of America [SCCA], 2021). Una vez estas fueron llevados a sequedad, se obtuvo un rendimiento de extracción que osciló entre el 13 al 21 % de extracto seco:café tostado y molido.

Tabla 1

Datos de las muestras analizadas de cafés especiales de El Salvador.

Código	Puntaje obtenido (0-100)	Cdlla / Altura (msnm)	Departamento	Beneficiado	Variedad	% Humedad M ± SD*
1	90.57	A-M / 1550	Chalatenango	Honey	Pacamara	2.81 ± 0.01
2	90.37	T-C / 1400	Usulután	Lavado	Bourbon	2.40 ± 0.06
3	89.93	A-I / 1200	Santa Ana	Honey	Bernardina	2.24 ± 0.06
4	89.93	A-M / 1600	Chalatenango	Lavado	Pacamara	2.56 ± 0.10
6	89.07	A-I / 1200	Santa Ana	Natural	Pacamara	3.07 ± 0.04
7	88.94	A-M / 1500	Chalatenango	Natural	Pacamara	2.67 ± 0.01
9	88.59	T-C / 1425	Usulután	Honey	Pacamara	2.78 ± 0.03
11	88.01	A-I / 1900	Sonsonate	Lavado	Kenya	2.43 ± 0.02
14	87.81	A-I / 1400	Santa Ana	Semi Lavado	Kenya	3.29 ± 0.09
15	87.59	A-I / 900	Santa Ana	Honey	Bourbon anaranjado	2.70 ± 0.04
19	87.37	A-I / 900	Ahuachapán	Natural	Pacamara	2.71 ± 0.06
23	87.18	A-I / 1800	Santa Ana	Lavado	Bourbon	2.42 ± 0.01

*n=3.

Cdlla= Cordillera: Apaneca-Illamatepec (A-I), Tecapa-Chinameca (T-C), Alotepec-Metapán (A-M).

Actividad antioxidante de las infusiones de cafés especiales

En este estudio se determinaron los valores de la captación de radical DPPH en los extractos secos provenientes de las infusiones de cafés (Tabla 2 y Figura 1). De acuerdo a los resultados obtenidos, el rango encontrado de milimoles equivalentes de trolox fue de entre 0.121-0.281 por gramo de café, las muestras con mayor capacidad antioxidante son las muestras **6** (variedad Pacamara; beneficiado natural; Departamento de Santa Ana), **4** (variedad Pacamara; beneficiado lavado; Departamento de Chalatenango), **1** (variedad Pacamara; beneficiado honey; Departamento de Chalatenango) y **2** (variedad Bourbon;

beneficiado lavado; Departamento de Usulután), con valores de 0.281, 0.251, 0.230 y 0.212 mmoles ET/g, respectivamente.

En un estudio realizado en Panamá a 34 muestras de cafés comerciales (Vega et al., 2017), determinaron que el rango de la capacidad antioxidante de estas muestras fue de 0.11-0.20 mmoles ET/g; al igual que en un estudio realizado en Norte de Santander (Colombia), donde 12 muestras comerciales de café presentaron valores en el rango de 0.224-0.245 mmoles ET/g (Fonseca-García et al., 2014). Todos estos resultados son similares a los presentados en este primer estudio de capacidad antioxidante de cafés especiales de El Salvador; dicha información es importante

Tabla 2

Actividad antioxidante encontrada por el método DPPH.

Código	Actividad antioxidante (mmoles ET/g) ^a	Actividad antioxidante (mmoles ET/225 mL)	Código	Actividad antioxidante (mmoles ET/g) ^a	Actividad antioxidante (mmoles ET/225 mL)
	M ± SD	M ± SD		M ± SD	M ± SD
1	0.230 ± 0.013	2.87 ± 0.09	9	0.121 ± 0.013	1.52 ± 0.10
2	0.212 ± 0.022	2.65 ± 0.17	11	0.185 ± 0.006	2.31 ± 0.07
3	0.173 ± 0.010	2.17 ± 0.14	14	0.128 ± 0.009	1.60 ± 0.08
4	0.251 ± 0.019	3.13 ± 0.25	15	0.178 ± 0.006	2.23 ± 0.07
6	0.281 ± 0.008	3.52 ± 0.05	19	0.183 ± 0.008	2.29 ± 0.11
7	0.193 ± 0.017	2.41 ± 0.20	23	0.156 ± 0.005	1.96 ± 0.07

^a Los valores son expresados en base seca.

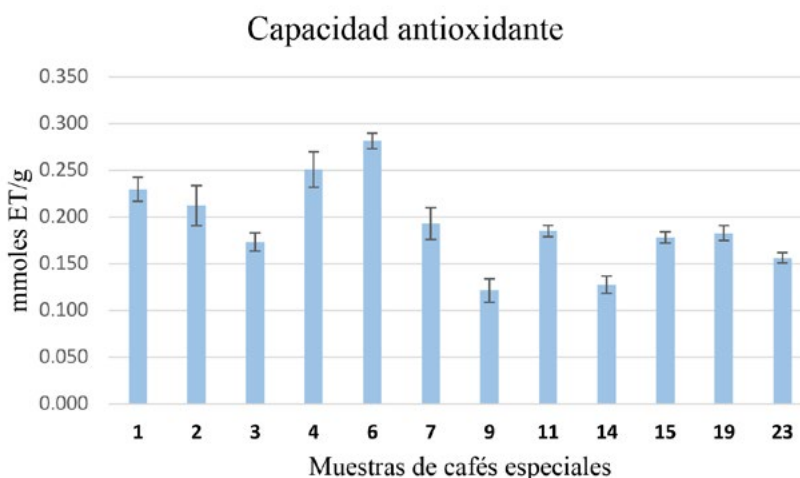
Los valores representan la media aritmética ± desviación estándar (n=9).

para valorar aún más el café de El Salvador en los mercados nacionales e internacionales; ya que, la bebida de café, es un alimento funcional y nutraceutico que posee diversas bioactividades, tales como, antioxidante, anticarcinogénica y antimutagénica (Naranjo et al., 2011; Saura-Calixto y Goñi, 2011). Algunas

de estas actividades biológicas son atribuidas a diferentes tipos de compuestos, en especial, a los alcaloides, ácidos hidroxycinámicos (ácido caféico, ferúlico, eláxico cumárico y clorogénico), polifenoles y compuestos aromáticos derivados del ácido shikímico, entre otros (Naranjo et al., 2011; Muñoz et al., 2020).

Figura 1

Capacidad antioxidante por el método DPPH de las 12 muestras de cafés especiales en milimoles ET/g de café.



Cuantificación de Cafeína por HPLC-PDA

Se determinó el contenido de cafeína en muestras de cafés especiales, las cuales presentaron valores entre 6.17-11.63 mg/g de café (0.617-1.163%), o expresado en taza de café, 72.20-137.34 mg/taza (tabla 3 y figura 2). El contenido más bajo de cafeína correspondió a la variedad Kenya (beneficiado semi lavado; Departamento de Santa Ana, **14**) por el contrario, el valor más alto a la variedad Pacamara (beneficiado honey; Departamento de Chalatenango, **1**). El rango de cafeína determinado en las muestras, concuerda con los valores típicos de este alcaloide presente en la especie de *Coffea arabica*, generalmente comprendidos entre 0.6-1.2% (Yashin et al.,

2017). Por otra parte, el Reglamento Técnico Salvadoreño exige un mínimo de cafeína de 0.4% en café sin descafeinar, por lo que todas las muestras analizadas se encuentran en rangos aceptables (Reglamento Técnico Salvadoreño [RTS], 2020). El contenido de cafeína en las bebidas de café es de suma importancia a nivel mundial por su influencia en el sabor, ya que, contribuye a la acidez, astringencia y al sabor amargo (Arai et al., 2015).

El contenido de cafeína no solo es importante desde el punto de vista farmacológico y sensorial, sino también, desde el punto de vista toxicológico, ya que, se ha determinado que el consumo de esta sustancia en exceso puede ser dañino para la salud, y causar: palpitaciones cardíacas, malestar estomacal,

Tabla 3

Cantidad de cafeína determinada en Cafés de El Salvador por HPLC-DAD.

Código	% Cafeína en café tostado ^a	Cafeína en café tostado (mg/g) ^a	Cafeína por taza (mg/225 mL)	Código	% Cafeína en café tostado ^a	Cafeína en café tostado (mg/g) ^a	Cafeína por taza (mg/225 mL)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD		M ± SD	M ± SD	M ± SD
1	1.163 ± 0.011	11.63 ± 0.11	137.34 ± 1.35	9	0.937 ± 0.005	9.37 ± 0.05	110.67 ± 0.55
2	0.901 ± 0.037	9.01 ± 0.37	107.29 ± 4.38	11	0.804 ± 0.005	8.04 ± 0.05	95.73 ± 0.62
3	0.683 ± 0.008	6.83 ± 0.08	81.58 ± 0.91	14	0.617 ± 0.005	6.17 ± 0.05	72.20 ± 0.61
4	0.963 ± 0.010	9.63 ± 0.10	114.29 ± 1.13	15	0.686 ± 0.006	6.86 ± 0.06	81.20 ± 0.66
6	1.026 ± 0.006	10.26 ± 0.06	120.56 ± 0.67	19	0.822 ± 0.006	8.22 ± 0.05	97.22 ± 0.57
7	0.927 ± 0.009	9.27 ± 0.09	109.74 ± 1.04	23	0.663 ± 0.005	6.63 ± 0.05	78.95 ± 0.58

^a Los valores son expresados en base seca.

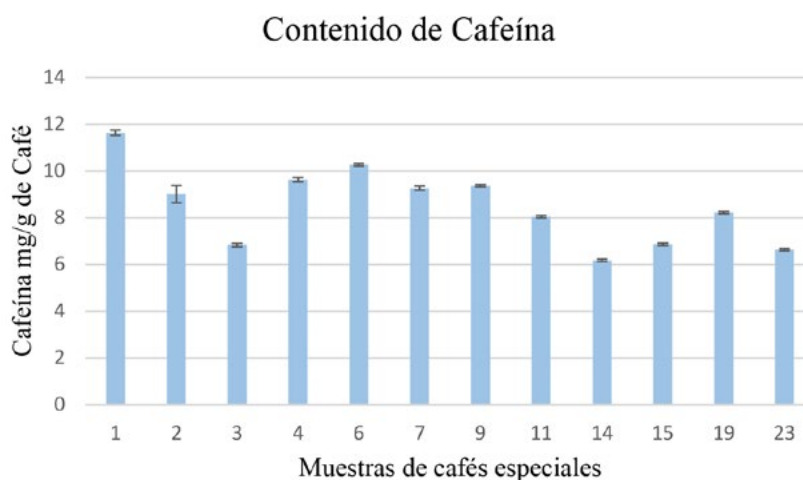
Los valores representan la media aritmética ± desviación estándar (n=3).

manos temblorosas, inquietud, disminución de la memoria y dificultad para dormir; y si es consumida por arriba de 500 mg en una sola bebida causa envenenamiento (Fajara y Susanti, 2017). Además, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, 2018), establece un consumo seguro de cafeína por

debajo de 400 mg para una persona adulta, dependiendo del grado de tolerancia de cada individuo. Basado en estos datos, una persona adulta pudiera ingerir 3 tazas de café, como se prepararon en este estudio, sin presentar efectos adversos relacionados al consumo de cafeína.

Figura 2

Contenido de Cafeína en mg por gramo de café.



Validación del método

El método utilizado para determinar la concentración de cafeína fue validado para verificar que su realización y rendimiento cumpliera con los requerimientos de rutina para la cuantificación de cafeína en extractos secos provenientes de infusiones de café.

La linealidad fue evaluada construyendo una curva de calibración con un estándar de cafeína en el rango de 5-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Al realizar la regresión lineal graficando el área de la respuesta del analito se obtuvo la siguiente ecuación de la recta $Y = 0.4834X + 0.0439$ y un coeficiente de correlación de 0.99998 (figura 3). En cuanto a la selectividad del método, no se encontraron posibles interferencias con el pico de la cafeína a un tiempo de retención de 2.640

minutos a 274 nm en el cromatograma.

Repetibilidad, precisión intermedia y exactitud

Al analizar las soluciones control en un mismo día se obtuvieron coeficientes de variación (CV) menores al 1.85% ($n=3$ en cada nivel) lo que muestra una buena repetibilidad, al igual que en la precisión intermedia en la que se analizaron las soluciones control en diferentes días se obtuvieron CV menores de 1.02% ($n=3$ en cada nivel). La exactitud del método se pudo comprobar por medio de la adición de estándar de Cafeína a una muestra de concentración conocida y se obtuvieron porcentajes de recobro de 98.76-99.99% (tabla 4).

Límite de detección y cuantificación

Una vez realizado los cálculos de regresión lineal se obtuvo la siguiente ecuación $Y =$

0.4834X + 0.0439 en la que se determinó que la desviación del intercepto fue de 0.16521 encontrando así los valores que se presentan

a continuación para el límite de detección y cuantificación de este método (tabla 4).

Tabla 4

Resultados de los parámetros de validación

Concentración (µg/mL)	Repetibilidad (n=3)		Precisión intermedia (n=3)		Exactitud		LD (µg/mL)	LC
	SD	CV	SD	CV	Nivel de adición (µg/mL)	% Recobro (n=3)		
25	0.46	1.85	0.26	1.02	25	99.99 ± 1.08		
Cafeína 50	0.68	1.35	0.32	0.63	50	98.90 ± 2.86	1.13	3.42
75	0.97	1.29	0.74	0.99	75	98.76 ± 0.61		

SD: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación, LD: Límite de detección, LC: Límite de cuantificación.

CONCLUSIONES

Las capacidades antioxidantes de los cafés de El Salvador variaron entre 0.121-0.281 mmoles ET/g, lo que representa una cantidad importante, además de considerarse como una bebida social, es una fuente de antioxidantes beneficiosos para la salud. En cuanto al contenido de cafeína, todas las muestras presentaron valores entre 0.617-1.163%, encontrándose dentro de los valores permitidos por el Reglamento Técnico Salvadoreño (mayor al 0.4% en base seca) y los valores típicos que presenta la especie *Coffea arabica*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador por el apoyo en el desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS

- ACE, Alliance for Coffee Excellence. (17 de febrero 2021). *El Salvador 2019*. <https://allianceforcoffeexcellence.org/el-salvador-2019/>
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official Methods of Analysis*. 18ª Edición. Washington DC.
- Arai K., Terashima, H., Aizawa, S., Taga, A., Yamamoto, A., Tsutsumiuchi, K., Kodama, S. (2015). Simultaneous determination of trigonelline, caffeine, chlorogenic acid and their related compounds in instant coffee samples by hplc using an acidic mobile phase containing octanesulfonate. *Analytical Sciences*, 31(8):831–835. <http://doi.org/10.2116/analsci.31.831>
- CSC, Consejo Salvadoreño del café. (17 de

- febrero de 2021) *Historial producción de café*. <http://www.csc.gov.sv/estadisticas/>
- CSC, Consejo Salvadoreño del café. (17 de febrero de 2021). *Felicitación a los ganadores del certamen de taza de excelencia el salvador 2019*. <http://www.csc.gov.sv/felicitacion-a-los-ganadores-del-certamen-de-taza-de-excelencia-el-salvador-2019/>
- Donfrancesco Di B., Gutierrez Guzman, N., Chambers, E. (2014). Comparison of results from cupping and descriptive sensory analysis of colombian brewed coffee. *Journal of Sensory Studies*, 29(4):301–311. <https://doi.org/10.1111/joss.12104>
- Fajara, B. E. P., Susanti, H. (2017). HPLC determination of caffeine in coffee beverage. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 259, 012011.
- FDA, Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. (17 de febrero de 2021). *Spilling the Beans: How Much Caffeine Is Too Much?* <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/spilling-beans-how-much-caffeine-too-much>
- Fonseca-García, L., Calderón-Jaimes, L., Rivera, M. (2014). Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del café producido y comercializado en Norte de Santander (Colombia). *Vitae, Revista de La Facultad de Química Farmacéutica*, 21(3):228–36.
- Galignani, M., Torres, M., Ayala, C., Brunetto, M. R. (2008). Determination of caffeine in coffee by means fourier transform infrared spectrometry. *Revista Tecnica de La Facultad de Ingenieria Universidad Del Zulia*, 31(2):159–68.
- Jiménez, A. M., Sánchez, M., Martínez, M. (2012). Optimización del método captación del radical 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 78(28):67–78. <https://doi.org/10.6018/j/188731>
- ICH, International Conference on Harmonisation. (2005). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf
- ICO, Organización Internacional del Café. (17 de febrero de 2021). *Informe del mercado de café, enero 2021*. <http://www.ico.org/prices/p1-January2021.pdf>
- Mumin, A., Akhter, K. F., Abedin, Z., Hossain, Z. (2006). Determination of caffeine by solid phase extraction and High Performance Liquid Chromatography (SPE–HPLC). *Malaysian Journal of Chemistry*, 8(1):45–51.
- Muñoz, A. E., Hernández, S., Tolosa, A., Burillo, S., Olalla-Herrera, M. (2020). Evaluation of differences in the antioxidant capacity and phenolic compounds of green and roasted coffee and their relationship with sensory properties. *Lwt - Food Science and Technology*, 128(june 2020): 109457. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109457>
- Naranjo, M., Vélez, Rojano, L. B. (2011). Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(2):164–173.
- Patil, P. N. (2012). Caffeine in various samples and their analysis with HPLC. A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 16(2):76–83.
- Rivas, M. M., Zaldaña, J., Gález, A., Castillo, U. G., Menjivar, J., Martínez, M. L. Núñez, M. J. (2020). Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en frutos de la flora salvadoreña. *Revista Minerva*, 3(2): 21–33.
- RTS 67.08.02:19. Reglamento técnico

salvadoreño. (2020). *Café. Café tostado en grano y tostado molido, requisitos de calidad*.

Saura-Calixto, F., Goñi I. (2006). Antioxidant capacity of the spanish mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94(3):442–447. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.033>

SCA, Specialty Coffe Association. (17 de febrero de 2021). *Standards*. <https://sca.coffee/research/coffee-standards>

SCAA, Specialty Coffee Association of America. (17 de febrero de 2021). *Protocols | Cupping Specialty Coffee*. <https://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf>

Vega, A., De León, J. A., Reyes, S. M. (2017). Determinación del contenido de polifenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de 34 cafés comerciales de Panamá. *Información Tecnológica*, 28(4):29–38. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000400005>

Vega, A., Reyes, S., De León, J., Bonilla, A., Franco, H. (2014). Cuantificación de cafeína en cafés comerciales de Panamá. *Ciencia y Tecnología*, 30(2):57–64

Wichmann von De La Figuera, M. (2009). Coffee and cardiovascular diseases. *Atención Primaria*, 41(11):633–636. <http://doi.org/10.1016/j.aprim.2009.09.002>

Yashin, A., Yashin, Y., Xia, X., Nemzer, B. (2017). Chromatographic Methods for Coffee Analysis: A Review. *Journal of Food Research*, 6(4):60-82. <http://doi.org/10.5539/jfr.v6n4p60>