Elaboración de protocolo de viabilidad para la semilla de café (*Coffea arabica*) para la planta de semillas de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Irvin Reniery Lazo Padilla

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2020

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Elaboración de protocolo de viabilidad para la semilla de café (*Coffea arabica*) para la planta de semillas de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Irvin Reniery Lazo Padilla

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2020

Elaboración de protocolo de viabilidad para la semilla de café (*Coffea arabica*) para la planta de semillas de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

Irvin Reniery Lazo Padilla

Resumen. En la actualidad, se cuenta con instalaciones, equipo y prácticas para el manejo de semillas de granos básicos en Zamorano, siendo un factor clave para la introducción de la semilla de café como otra línea de procesamiento. Al no existir una guía para el procesamiento de esta, se identificó la oportunidad para el manejo de la semilla de café. La prueba de Tetrazolio es utilizada para determinar la viabilidad de la semilla que se va a introducir, cuya eficiencia en tiempo es benefactora. El objetivo de este estudio fue elaborar un protocolo para evaluar la viabilidad en la semilla de café para el laboratorio de semillas de Zamorano, así mismo, determinar un flujo de proceso para la Planta de Semillas de Zamorano. Mediante el análisis de Tetrazolio se identificaron puntos clave para la elaboración del protocolo, como lo es la identificación de un corte adecuado (sobre el embrión). La prueba entre semillas viables y no viables tuvo diferencias significativas al poder determinar que mediante la prueba de Tetrazolio se puede diferenciar una semilla viable de una no viable. Se elaboró un protocolo para la medición de viabilidad en la semilla de café para el laboratorio de semillas de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Se debe hacer uso del protocolo e identificar diferentes concentraciones de tetrazolio para la prueba de viabilidad en la semilla de café y realizar comparaciones con otros métodos de viabilidad para medir la precisión de esta.

Palabras clave: Acondicionamiento, análisis, flujo de proceso, prueba de tetrazolio.

Abstract. Currently, Zamorano already has the facilities, equipment, and practices for handling the seeds of food grains, being this a key factor for the introduction of the coffee seed as an additional line of processing. In the absence of a guide for its processing, the opportunity for the management of coffee seeds was identified. The Tetrazolium test is used to evaluate the viability of the seed when introduced, whose efficiency in time is beneficial. The objective was to develop a protocol to measure the viability in the coffee seed for the Seed Laboratory of Zamorano, as well as to determine a process flow for the Seed Plant of Zamorano. Through the analysis with the Tetrazolium test, key points were identified for the elaboration of the protocol, such as the identification of a suitable cut (over the embryo). The test between viable and non-viable seeds had significant differences since it was possible to determine that through the Tetrazolium test, a viable seed can be differentiated from a non-viable one. A protocol was developed for the measurement of viability in coffee seed for the Seed Laboratory of the Pan-American Agricultural School, Zamorano. The protocol should be used and the identification of different concentrations of tetrazolium should be investigated for the viability test on the coffee seed, and to be able to do comparisons with other viability methods to measure precision.

Key words: Analysis, conditioning, flow process, tetrazolium test.

ÍNDICE GENERAL

Portadilla i
Página de firmas ii
Resumen iii
Índice General iv
Índice de Cuadros y Figuras v

1. INTRODUCCIÓN 1

2. MATERIALES Y MÉTODOS 3

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 6

4. CONCLUSIONES 13

5. RECOMENDACIONES 14

6. LITERATURA CITADA 15

7. ANEXOS 16

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros Página

1. Resultados de la viabilidad en tres cortes de la semilla de café. ..... …… 6
2. Resultados de viabilidad con la prueba de tetrazolio en semillas de café vivas y muertas. 7
3. Descripción de las operaciones necesarias para el procesamiento de semillas.…... …… 9
4. Descripción del equipo disponible para el procesamiento de semillas. ..... …… 10

Figuras Página

1. Resultado de prueba de tetrazolio, corte 4mm del centro de la semilla hacia el embrión.... 4
2. Resultado de prueba de tetrazolio, corte centro de la semilla. ..... …… 4
3. Tres cortes comparados en la semilla de café. ..... …… 5
4. Resultados de prueba de tetrazolio. ..... …… 8
5. Flujo de proceso para el procesamiento de la semilla de café..... …… 11

Anexos Página

1. Protocolo de viabilidad de Tetrazolio en la semilla de Café.…..... …… 16

1. INTRODUCCIÓN

La presente investigación se basa en el estudio de la semilla de café y el manejo que se le podría brindar a la misma dentro de las instalaciones de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Con gran importancia de producción a nivel nacional, es el principal producto agrícola de exportación, aportando más del 3% al PIB Nacional en Honduras (IHCAFE 2018). Debido a su gran importancia, se identifica una oportunidad para el manejo de la semilla con el propósito de brindar apoyo a los productores del sector cafetalero, manteniendo la tendencia de un cultivo de producción basados en volumen y calidad en taza, crece la importancia de manejar variedades que brinden confiabilidad para el productor, demostrando un gran factor de importancia para el manejo de la semilla de café a nivel industrial. La Asociación nacional del café indica (Anacafé 2019), que el uso de variedades de café debe estar de acorde al lugar y a los intereses del productor, ya que favorece la rentabilidad y sostenibilidad del cultivo. En la actualidad ya se cuenta con instalaciones, equipo y prácticas para el manejo de semillas de granos básicos en Zamorano, siendo un factor clave para la introducción de la semilla de café como otra línea de procesamiento.

En el presente estudió se analizará el impacto que tendría el desarrollo de un flujo de proceso para la introducción de semilla de café en la Planta de Semillas de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Este análisis se realiza paralelamente con estudios físicos que ayudarán a determinar la viabilidad de las semillas de café para su procesamiento. Es entonces donde radica la importancia de demostrar que ambos aspectos, cadenas productivas e implementación tecnológica, son aspectos muy relacionados y nos demostrarán una visión más clara de las ventajas y desventajas de realizar dicho proyecto, por ello es preciso el estudio conjunto de los mismos.

El análisis de viabilidad en una semilla es de gran ayuda para que los procesadores cumplan con el objetivo de brindar calidad y crear confiabilidad con el producto final. La viabilidad se define como la capacidad de germinar y de originar plántulas normales en condiciones ambientales favorables (Pérez García y Pita Villamil 2008). La prueba de tetrazolio es clave en el análisis de viabilidad por su eficiencia en tiempo de resultados, esta se basa en las enzimas deshidrogenadas que participan en las reacciones de respiración de las células vivas, enzimas presentes en los tejidos vivos de las semillas que reducen la solución incolora que contiene la sal de tetrazolio a un compuesto insoluble denominado Formazan de color rojo/rosado, para ello se requiere de un corte en el área donde se lleva a cabo la reacción e identificación de la viabilidad de la semilla. La semilla de café es elíptica o en forma de huevo, planoconvexa, que posee un surco longitudinal en la superficie plana (Dedecca 2007). La cubierta exterior de la semilla está formada por un endocarpio duro de color marrón pálido que se convierte en el pergamino después del secado. El endocarpio contiene una semilla encerrada que tiene una fina testa verde conocida como espermodermo o "piel plateada" que cubre el endospermo y este mantiene el embrión en su interior ubicándolo en un extremo de la semilla. Debido a que la semilla de café se agrupa entre las semillas dicotiledóneas y según (Romero y Robelto 2020) se define que en la prueba de tetrazolio se puede identificar viable una zona externa al embrión debido a que el endospermo en la semilla de café es un tejido vivo (De Castro RD y Hilhorst HWM 2005), a diferencia de las semillas monocotiledóneas. Los colores obtenidos típicamente en esta prueba corresponden al rojo indicativo de tejidos vivos e incoloros indicativo de tejidos muertos (ISTA 2010). Por ello, se brinda un protocolo con la finalidad de estandarizar la medición de la viabilidad en la semilla de café.

El proceso de documentación incluyó los siguientes objetivos:

- Elaborar un protocolo para medición de viabilidad en la semilla de café para el laboratorio de semillas de Zamorano.

- Definir un flujo de proceso para acondicionar semilla de café en la planta de semillas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación
Este estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de la Planta de Semillas de Zamorano, en el cual se realizaron los experimentos establecidos para la elaboración del protocolo.

El laboratorio cuenta con servicios de: análisis de calidad de semillas, análisis de germinación, vigor y físico. Estas instalaciones forman parte del Departamento de Agroindustria Alimentaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano (EAP), localizada en el km 30 de la carretera de Tegucigalpa hacia Danlí, en el departamento de Francisco Morazán, Honduras.

Prueba de viabilidad
Se definió un protocolo para identificar la viabilidad de la semilla de café por medio de la prueba de tetrazolio, la cual, está basada en las recomendaciones de las Reglas Internacionales de Análisis de Semilla (ISTA, por sus siglas en inglés). Para el estudio se realizaron pruebas para determinar el corte adecuado que se debe ejecutar en la semilla de café, de igual forma se implementó el protocolo en semillas viables y semillas muertas con el fin de identificar si se encuentra una diferencia utilizando el mismo protocolo.

Preparación de solución de tetrazolio
La solución de tetrazolio empleada se preparó de acuerdo con las recomendaciones para Prueba Bioquímica de viabilidad por Tetrazolio en las Reglas Internacionales de Análisis de Semilla (ISTA, por sus siglas en inglés). Se diluyo 1.0 gramo de la sal 2, 3, 5- cloruro de trifeniltetrazolio en 1,000 mL de agua para crear una solución de 1.0% de solución de tetrazolio para ejecutar la prueba de viabilidad.

Pre acondicionamiento de la semilla
Las semillas se pre acondicionaron en una sumersión en agua por 24 horas para asegurar que todas las semillas lleguen a su máxima hidratación, de manera que cambie a una textura más blanda.

Corte de semilla
Las semillas hidratadas se cortaron en el punto determinado, permitiendo un área de contacto entre tejidos frescos con el tetrazolio. Punto donde toma lugar la reacción de las sales y la identificación de la viabilidad de la semilla.

Incubación
Las semillas ya cortadas se colocaron en platos Petri con tapa y se cubrieron en su totalidad con la solución de tetrazolio y se colocaron en un horno para acelerar el proceso mediante una incubación de 60 minutos a 40 ºC. Transcurrido el periodo se elimina la solución de tetrazolio y se lava con agua la semilla.

Conteo de resultados

Se realizó una selección de semillas y se identificó debido al resultado obtenido por una existente o no existente tinción en el área de corte, el cambio de color, debido de las enzimas deshidrogenadas responsables de reducir la solución incolora que contiene la sal de tetrazolio a Formazan de color rojo/ rozado (Glenner 1990). Como se demuestra en la Figura 1 para el corte 4 mm del centro de la semilla hacia el embrión, semilla no viable (izquierda) y semilla viable (derecha). y en la Figura 2 para el corte en el centro de la semilla, semilla no viable (izquierda) y semilla viable (derecha).

Figura 1. Resultado de prueba de tetrazolio, corte 4mm del centro de la semilla hacia el embrión.

Figura 2. Resultado de prueba de tetrazolio, corte centro de la semilla.

Definición de corte en la semilla

Para definir el corte adecuado en cuanto a conveniencia de lectura para la prueba de tetrazolio, se identificaron tres puntos en el cual se puede realizar el corte. Tomando el centro de la semilla como el primer corte, el segundo corte se realizó 4 mm del centro hacia el embrión de la semilla atravesando este mismo y el tercer corte se realizó 4mm del centro en dirección contraria al embrión. Las repeticiones se basaron en el protocolo ya definido. Se realizaron tres repeticiones para cada uno de los cortes.

En la Figura 3. Se demuestran los tres cortes ejecutados y comparados en la semilla de café siendo: corte alejado del embrión 4mm del centro de la semilla (semilla superior), corte en el centro de la semilla (semilla centro) y corte sobre el embrión (semilla inferior).

Figura 3. Tres cortes comparados en la semilla de café.

Diferenciación en viabilidad en la semilla de café

Para definir la funcionalidad de la prueba se identificaron dos tratamientos, semillas viables y semillas muertas. Se ejecutó la prueba basándose en el protocolo ya definido. Se realizaron cuatro repeticiones por cada tratamiento. La eliminación de la viabilidad de las semillas muertas se llevó a cabo colocándose en el horno por 24 horas a una temperatura de 70°C.

Flujo de proceso

Fase 1. Etapa en la que se necesitó ayuda de todos los operarios de la planta de semillas, ya que son quienes realizan las actividades de procesamiento para determinar los puntos clave de la realización de un flujo de proceso y a la vez se delimitaron las operaciones necesarias para la introducción de la semilla de café.

Fase 2. Se llevó a cabo la identificación de maquinaria que es utilizada con las semillas procesadas en la planta, determinando su operación básica para adaptarla al flujo de proceso de la semilla de café.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) para definir si existió diferencia significativa entre cortes al determinar la viabilidad en la semilla. Para la diferenciación de estado de la semilla se utilizó un diseño de comparaciones independientes por medio de una Prueba T, y de esta manera se comparó y definió si existe una diferencia significativa entre la viabilidad de semillas muertas y semillas vivas a un nivel de significancia de $P < 0.05$. Se usó el programa SAS® versión 9.1 para realizar el análisis estadístico de la investigación.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba de viabilidad

En el Cuadro 1 se pueden observar las medias y desviación estándar de los porcentajes de viabilidad de las pruebas que se le realizaron a las semillas de café. Los resultados indican que no existe una diferencia significativa (P > 0.05) entre los cortes, siendo agrupados por la separación de medias Duncan en el mismo grupo. Siendo agrupadas dentro del mismo grupo se identificó que la media del corte alejado del embrión va debajo del resto de las medias, sin embargo, se observa que existe una desviación estándar siendo una medida de dispersión dentro de la población (Santana, 2009). Siendo de gran importancia que, al obtener una variación elevada en la lectura de la viabilidad, se descarta la opción de ser un corte recomendado para la elaboración del protocolo para la semilla de café.

Cuadro 1. Resultados de la viabilidad en tres cortes de la semilla de café.

	Cortes (Media + DE)		
	Centro de la semilla	**Alejado del embrión**	**Sobre el embrión**
Viabilidad (%)	85.66±2.49 [A]	77.33±7.40 [A]	84.33±0.82 [A]
CV(%)	7.5		
P	0.49		

CV: Coeficiente de Variación (%).
A: Separación de medias, indicando que no hay diferencias de viabilidad entre los cortes (P> 0.05).
P: Probabilidad experimental entre cortes

En el caso de los cortes realizados en el centro de la semilla y el corte alejado del embrión, solamente se puede identificar un cambio de color en el endospermo de la semilla. Obteniendo resultados favorables para identificación de la viabilidad de la semilla como menciona (Romero y Robelto 2020) en la semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*), siendo una semilla en la prueba de tetrazolio, no se le realizan cortes y se identifica el estado fisiológico de esta mediante el tinte en el endospermo.

En el corte realizado sobre el embrión se diferenció de los otros cortes, debido a que se identificó no solamente la tinción en el endospermo, sino que de igual forma se conoce el estado del embrión. Como en la semilla de maíz (*Zea maíz*) en el estudio de (Quezada 2019) indica que el tetrazolio al tener contacto con el embrión es capaz de identificar el estado de viabilidad de este.

La elección del corte más conveniente para la prueba determinó la más eficiente para el analista y aquel corte que brindara más información al analista para la identificación de la semilla. En contraste a los resultados en la semilla de maíz y de frijol, el resultado en la semilla de café fue más efectivo y amigable para los analistas; demostrando que se puede identificar mediante la tinción en el endospermo y el embrión, formando un conjunto de indicadores para el analista para el conteo de resultados final. considerando las ventajas que muestra el corte sobre el embrión, este

se seleccionó para el protocolo para la prueba de viabilidad en la semilla de café en el laboratorio de semillas de la Escuela Agrícola el Zamorano.

La identificación rápida del estado de viabilidad en un lote de semilla es de importancia para poder tomar decisiones al momento de realizar decisiones sobre ese lote. La semilla de café brinda resultados de germinación de 25 a 30 días (Vargas 2018). Teniendo presente el tiempo prolongado de respuesta del estado de la semilla, se presenta el método de tetrazolio que da determinaciones de manera eficaz con resultados reales.

Al colocar a alta temperatura una muestra se eliminando la viabilidad en la semilla y compararlo con los resultados de una muestra viable se identificó que la prueba de tetrazolio sí identifica un cabio en la semilla de café y permite identificar una semilla viable de una no viable. Obteniendo resultados como lo indica el Cuadro 2.

Cuadro 2. Resultados de viabilidad con la prueba de tetrazolio en semillas de café vivas y muertas.

	Vivas	**Muertas**
Viabilidad (%)	84.00 ± 1.58^{A}	3.500 ± 1.65^{B}
CV(%)	5.36	
P	0.0001	

CV: Coeficiente de Variación (%).
P: Probabilidad experimental entre las semillas vivas y muertas ($P < 0.05$).

En el Cuadro 2 se expresan los resultados del grupo de semillas vivas y el grupo de las semillas que se les aplico condiciones extremas con el objetivo de que mueran. Se identifica una diferencia significativa entre la viabilidad de los grupos, demostrando que la prueba de Tetrazolio si logra identificar las semillas muertas de las semillas vivas de café. Dando una probabilidad entre los porcentajes de viabilidad de 0.0001 se identificó la diferencia entre los dos grupos. El R-cuadrado obtenido fue de 99.87% definiendo que los datos se ajustan al modelo lineal, siendo esto favorable y demostrando que dentro de las muestras no se obtuvo mucha variación, lo cual, es un factor importante para el funcionamiento de la prueba.

Se mantuvo la separación de una semilla color rojiza como indicadora de tejidos vivos y semilla sin cambio de color como semilla muerta (ISTA 2010). La semilla de café demostró un comportamiento similar a las semillas de maíz y frijol observados en los análisis por Quezada. (2019), Romero y Robelto (2020), en el cual, concluyen que el color obtenido para los tejidos vivos es de color rojizo e incoloros para los tejidos muertos. En la Figura 4 se muestra la comparación visual de las semillas vivas con las semillas muertas, semilla no viable incoloro (izquierda) y semillas viables (derecha).

Figura 4. Resultados de prueba de tetrazolio.

Flujo de proceso

Fase 1. Determinación de operaciones básicas para la semilla de café. Los procedimientos que se realizan en la planta de semillas dependen del mercado, así como también de la calidad genética y fisiológica de la semilla, los cuales, son determinados en base a su producción. La planta de Semillas de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano tiene una producción tanto externa como interna. El equipo de secado tiene una capacidad de 1000 quintales, y su capacidad de almacenamiento es de 3500 y 5000 quintales respectivamente. Actualmente su producción está dirigida a procesamiento de semillas para granos básicos.

Debido a los antecedentes mencionados, al inicio del presente estudio se estipularon las operaciones básicas que serán incorporadas o eliminadas para el procesamiento de semillas de café, operaciones que ya son manejadas por la planta de semillas, Preacondicionamiento (recibo, secado, desgrane) y acondicionamiento (limpieza, clasificación por forma y tamaño, clasificación por peso, tratamiento y empaque, almacenamiento, comercialización).

Dentro de las operaciones básicas para procesamiento de semillas de café se incluyen:

- Preacondicionamiento, el cual, se enfoca en el recibo de la materia prima, realizando muestreos y análisis de lote para determinar el rumbo de las fases a continuación de esta.

- Acondicionamiento, en esta etapa se realiza la limpieza de las semillas, el clasificado por peso, empaque, almacenamiento y comercialización.

En el Cuadro 3 tenemos presente la comparación de las operaciones necesarias para el procesamiento de las semillas actualmente procesadas en la planta de semillas con las operaciones necesarias para el procesamiento de la semilla de café.

Cuadro 3. Descripción de las operaciones necesarias para el procesamiento de semillas.

Operaciones	Zamorano (Maíz, Frijol y Sorgo)	Semilla de Café
Recibo	X	X
Secado	X	X
Desgrane	X	-
Limpieza	X	X
Clasificación por forma y tamaño	X	-
Clasificación por peso	X	X
Tratamiento y empaque	X	X
Almacenamiento	X	X

X: define operaciones necesarias.

Al igual que otras plantas en Zamorano, esta planta recibe materia prima tanto de Zamorano como de productores locales. En el caso del procesamiento de semillas de café en esta planta, se recibirá materia prima de proveedores externos.

Fase 2. Identificación de maquinaria. Actualmente en la planta de semillas de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, se cuenta con maquinaria apta para todas las operaciones de procesamiento de semillas para granos básicos.

Al momento de la recepción se realizan distintas actividades, como el pesado, el cual debe de identificarse de acuerdo con el origen del producto, lote, fecha de ingreso, material. Al momento de recibir un lote se deposita en bandas transportadoras para evitar cualquier daño provocado mecánicamente. El material que se recibe debe estar a un 40% de humedad, por esta razón el proceso de recibo no debe prolongarse más de 24 horas para que se pueda proceder al proceso de secado, de no ser así, se puede comprometerse la calidad fisiológica.

Para el momento de secado, la planta cuenta con dos tipos de secadoras: secadoras verticales con una capacidad de 750 a 1000 quintales, secadoras horizontales de ocho tolvas y con una capacidad de 45 quintales por tolva.

En el desgrane, la planta de semillas de Zamorano cuenta con una desgranadora con capacidad de 80 a 100 quintales por hora, la cual, causa menos del 1% de daño mecánico, esto debido a un sistema de desgrane de eje longitudinal.

Para el almacenamiento se cuenta con bodegas a temperatura ambiente. Al momento de la limpieza, se utiliza una máquina de Aire y Zaranda (MAZ), la cual, hace que las semillas pasen por un flujo de aire que elimina cualquier partícula liviana, posteriormente pasan por un conjunto de cuatro zarandas que separan las semillas por tamaño o las que se encuentran fuera del rango requerido por la planta.

Luego de la limpieza, se realiza la clasificación por forma y tamaño, para lo que se utiliza un sistema de cilindros (cilindros Carter) que las separa en seis presentaciones diferentes: plano chico

(PCH), bola chica (BCH), plano medio (PM), bola media (BM), plano grande (PG) y bola grande (BG).

La clasificación por peso se realiza con un equipo denominado mesa gravimétrica, la cual, separa las semillas por su peso específico. Esto se realiza a través de un flujo de aire por una plataforma inclinada y perforada que suspende las semillas según su peso y las separa. Posteriormente, se hace uso de la maquina empacadora, cuyas semillas son empacadas en bolsa de papel con cubierta interior de nylon para evitar el intercambio de gases y humedad, para finalizar, las bolsas son almacenadas en cámaras climatizadas.

Lo descrito anteriormente es el flujo realizado en las semillas que actualmente la planta procesa, como lo es la semilla de maíz. El procesamiento de la semilla de café es en comparación a la semilla anterior mencionada, un proceso mucho más corto en cuanto a operaciones de procesamiento y uso de maquinaria, por lo que la maquinaria utilizada en procesamiento de maíz se acopla perfectamente a la utilizada en el procesamiento de café, lo cual incluye:

- Máquina de Aire y Zaranda (MAZ).
- Mesa Gravimétrica.
- Mesas blancas para selección manual.
- Máquina para empaque.
- Cámara climatizada.

En el Cuadro 4 se observa la comparación de los equipos necesarios para el procesamiento de las semillas actualmente procesadas en la planta de semillas con los equipos necesarios para el procesamiento de la semilla de café.

Cuadro 4. Descripción del equipo disponible para el procesamiento de semillas.

Nombre	**Zamorano**	**Semillas de café**
Secadoras industriales	X	X
Máquina de aire y zaranda	X	X
Cilindros carter	X	-
Mesa Gravimetrica	X	X
Bandas de selección manual	-	X*
Empacadora	X	X
Cuarto de almacenamiento	X	X

X: define el equipo utilizado actualmente en Zamorano y equipo necesario para el procesamiento de semilla de café.
*****: equipo remplazado por mesas blancas para realizar una selección manual.

Para la introducción de semillas de café de la planta de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, se realizó un flujo de proceso (Figura 5) donde se identificaron los posibles pasos a seguir para el procesamiento de la semilla de café.

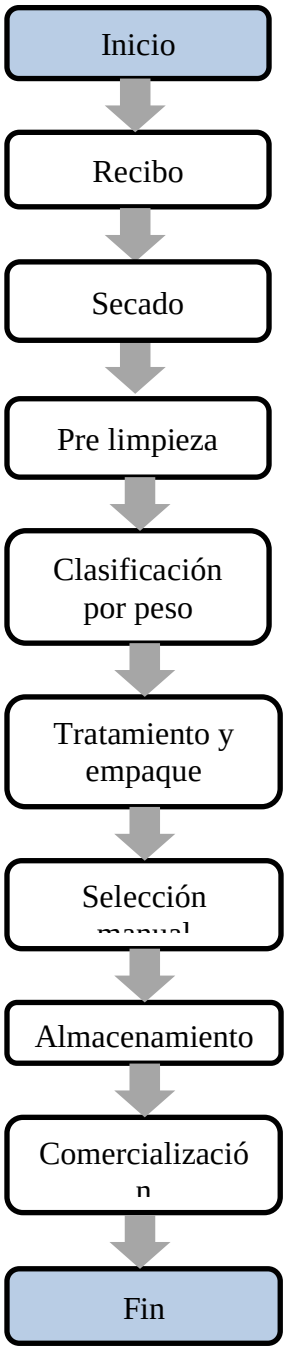

Figura 5. Flujo de proceso para el procesamiento de la semilla de café.

Descripción de flujo de proceso

Recibo. Al momento de la recepción se realizan diferentes actividades como pesado, análisis de viabilidad, identificación (origen del producto, lote, material, fecha de ingreso), muestreo físico y humedad. El material debe de recibirse con la humedad estipulada por la unidad. En el caso de la planta de semillas esta humedad es del 40%. Una vez recibido el producto se realiza una aplicación de insecticida (Deltametrina) por termo niebla para eliminar los adultos del gorgojo de café (*Araeocerus fasciculatus*), estas aplicaciones están a cargo de la empresa Ecolab.

Secado. El secado se realizaría en las secadoras industriales horizontales con el objetivo de reducir el porcentaje de humedad hasta un 14% en el grano, manteniendo temperaturas bajas para realizar el secado con la finalidad de no interferir en la viabilidad de esta.

Pre-limpieza. Para la limpieza se debe de utilizar una Maquina de Aire y Zaranda (MAZ). En este proceso las semillas pasan por un flujo de aire que elimina todas las partículas livianas, luego pasan por zarandas en el cual se separan las semillas por tamaños, eliminando semillas fuera del rango.

Clasificación por peso. Este proceso se realiza con un equipo denominado mesa gravimétrica que separa las semillas según su peso específico. La separación se realiza utilizando un flujo de aire a través de una plataforma inclinada y perforada que suspende las semillas según su peso y las separa. Las semillas con mayor peso son semillas en buen estado y las semillas con menor peso son semillas que presentan algún tipo de daño y son descartadas.

Selección manual. Este proceso en la planta de semillas de Zamorano se debe de realizar en las mesas blancas del laboratorio de semillas, esto con el propósito de eliminar la mayor cantidad de material con daños que no fue eliminada en el proceso anterior, o en la mesa gravimétrica o en la MAZ.

Empaque. Las semillas serán empacadas en bolsa de papel con una cubierta interior de nylon que evitará el intercambio de gases y humedad. Se empacan 3000 semillas por bolsa.

Almacenamiento. Las semillas empacadas se almacenan en cámaras climatizadas con 40% de humedad relativa y un rango de temperatura de 14 a 16 °C. La vida útil de la semilla de café en estas condiciones puede ser de 9 meses.

Comercialización. Las decisiones de comercialización son tomadas por las personas encargadas.

4. CONCLUSIONES

- El laboratorio se semillas cuenta con un protocolo para realizar la prueba de viabilidad de Tetrazolio para la semilla de café, identificando puntos importantes como el corte, y se comprobó la funcionalidad del método en el laboratorio de semillas de Zamorano

- Se desarrolló un flujo de proceso, el cual, determina las operaciones básicas y equipo necesario para el acondicionamiento de la semilla de café en la Planta de Semillas de Zamorano

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar diferentes concentraciones de Tetrazolio para definir la mejor solución para la prueba de viabilidad en la semilla de café usando el protocolo de viabilidad de Tetrazolio en semilla de café.

- Comparar la precisión de la prueba de Tetrazolio con otras pruebas de germinación y vigor ya existentes.

- Realizar un estudio que identifique la capacidad en maquinaria y tiempo con el que cuenta la planta de semillas de la Escuela Agrícola Panamericana para el procesamiento de la semilla de café.

6. LITERATURA CITADA

Asociacion nacional de café. Anacafe, 2019. Guia de variedades de café. Guatemala. Segunda ed. 48 pp.

Dedecca DM. 2017. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de Coffea arabica L. var. Typica Cramer. Bragantia. 16: 315-355.

De Castro RD, Hilhorst HWM. 2005. Dormancy, germination and the cell cycle in developing and imbibing coffee seeds. Braz. J. Plant Physiol. 12:105-136.

Glenner, G.G. 1990. Formazans and Tetrazolium Salts. In: Biological Stains. Edited by R.D. Lillie, M.D. Sigma Chemical Company. ISBN 0-941633-29-2 p.225-235.

Instituto Hondureño del Café [IHCAFE]. 2018. Exportaciones. Caficultura hondureña. Honduras; [fecha de modificación 15 de agosto del 2018; fecha de acceso 10 de marzo del 2020] https://www.ihcafe.hn/exportaciones/

Mercado, S. A. S., Caleño, J. D. Q., & Urbano, V. J. B. 2019. Implementación de la prueba de tetrazolio en las semillas de *Raphanus sativus L*. Revista Facultad De Ciencias Básicas.15(2), 7-15.

Pérez García, F. y Pita Villamil, J.M. 2008. Dormición de Semillas. Hojas Divulgadoras. Núm. 2103-HD. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid, 20 pp.

Quezada, A. G. 2019. Evaluación de la viabilidad de semillas de maíz (*zea mays)* mediante pruebas de tetrazolio y espectroscopía de infrarrojo. [trabajo de titulación]. Machala, Ecuador. UTMACH, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias.

Reglas Internacionales para Análisis de Semillas [ISTA]. 2010. ISTA working sheets on tetrazolium testing. International Rules for Seed Testing Association.

Romero, Robelto. 2020. Evaluación de la calidad de semillas de fríjol común (Phaseolus vulgaris L.) variedad Palicero en el banco de semillas de la Universidad Libre. Investigación en Ingeniería, 17. DOI 10.18041/1794-4953/AVANCES.1.5897

Santana, M. 2009. Análisis comparativo de metodologías estadísticas y definición de variables de las encuestas de viajes de Bogotá, años 1995 y 2005. Revista de Ingeniería. 29, 148-155.

Vargas Torres, G. S. 2018. Tolerancia a la desecación de semillas de café Catimor. Coffea arabica L. x Coffea canephora Pierre ex A. Froehner.

7. ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de viabilidad de Tetrazolio en la semilla de Café.

ZAMORANO	ESCUELA AGRÍCOLA PANAMERICANA DEPARTAMENTO DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA LABORATORIO DE GRANOS Y SEMILLAS PROCEDIMIENTO DE PRUEBA TETRAZOLIO CAFË
Fecha de emisión: 07/09/2020	Elaboró: Irvin Lazo
Revisó: Juan Francisco (técnico analista)	Aprobó: Ing. Edward Moncada (Jefe de laboratorio)

1. Objetivo y alcance

Obtener el porcentaje de viabilidad de la semilla de café en laboratorio por medio de la prueba Tetrazolio.

2. Materiales y equipo

- Plato Petri
- Cúter
- Colador manual
- Guantes
- Horno

3. Reactivos

- 2,3,5 Cloruro de Trifenil Tetrazolio al 1.0%. Mantener solución en un envase oscuro y hermético con una durabilidad de 2 semanas.

4. Procedimiento

- Pre acondicionar las semillas en una sumersión en agua por 24 h. con la finalidad de ablandar tejidos.
- Las semillas completamente hidratadas se les realiza un corte transversal sobre el embrión.
- Colocar las semillas ya cortadas en platos Petri y se cubre por completo con la solución de Tetrazolio a la concentración de 1.0%
- Colocar los platos en el horno a una temperatura de 40 ºC durante 60 minutos.
- Transcurrido el periodo de incubación, retirar del horno los platos Petri con las semillas.
- Eliminar la solución de Tetrazolio con la ayuda del colador y lavar las semillas con abundante agua.
- Realizar una selección por colores y un conteo de semillas agrupadas por colores.
- Colores presentes sobre los cortes de la semilla son indicativos de la condición de fisiológica. Colores rojizos indicando semillas viables con tejidos sanos y vigoroso. Incoloro indicando semillas con tejidos muertos.
- Calcular el porcentaje de viabilidad.

$$\%\ de\ viabilidad = \frac{\text{numero de semillas viables}}{\text{total de semillas}} * 100$$

Referencia

ISTA. 2010. ISTA working sheets on tetrazolium testing. International Rules for Seed Testing Association.