

## **ANEXO I. Protocolo de acopio de hígado fresco**

### **Reactivos o productos**

No se describen en este protocolo.

### **Material**

- Cuchillo.
- Tabla de corte.
- Bolsas envasado a vacío.

### **Equipos**

- Envasadora a vacío.
- Abatidor de temperatura.
- Congelador a -18 °C.
- Refrigerador a 4 °C.

### **Procedimiento**

NOTA: Consultar previamente el ANEXO I.I. para identificar correctamente los lóbulos que constituyen el hígado porcino.

No procesar más de 6 hígados frescos a la vez, hacerlo rápidamente y conservar en refrigeración a 4 °C desde su compra hasta su utilización, debiéndose adquirir el mismo día que se vayan a utilizar.

#### *Situar el hígado*

NOTA: Realizar los siguientes pasos con guantes y con la bancada cubierta con papel protector.

1. Colocar el hígado con su cara visceral a la vista.
2. Hacer coincidir el proceso caudado con la esquina superior derecha de la tabla de corte.

#### *Corte de los lóbulos*

3. Situado correctamente, de izquierda a derecha, identificar por orden los 4 lóbulos principales que lo constituyen: lateral izquierdo, medial izquierdo, medial derecho y lateral derecho.

4. Con ayuda del cuchillo, separar cada uno de los 4 lóbulos de izquierda a derecha. La zona de corte es aproximada y se identifica de manera lógica.
5. Dividido el hígado en sus 4 lóbulos principales, decidir si alguno de ellos por su excesivo tamaño es necesario dividirlo en dos partes, de cada cual se podrán obtener los cilindros necesarios para una experiencia de secado, aprovechando de esta manera la totalidad de la porción.

#### *Envasado de los lóbulos*

6. Envasar cada lóbulo por separado (y sus porciones si se ha dividido un lóbulo en dos) y rotular las bolsas de envasado a vacío indicando los siguientes datos:
  - Fecha de envasado (dd/mm/aa).
  - Número de hígado (1, 2, 3...n, números correlativos en función del procesado).
  - Lóbulo: lateral izquierdo (LLI), medial izquierdo (LMI), medial derecho (LMD) o lateral derecho (LLD).
7. Envasar a vacío cada bolsa al 80% de vacío, limpiando previamente el borde de cada una con papel húmedo, con el fin de asegurar un correcto sellado de las mismas.

#### *Congelación de los lóbulos envasados*

8. Colocar en el abatidor de temperatura el conjunto de bolsas durante 240 minutos, en modo congelación.
9. Transcurrido el tiempo necesario, almacenar en congelación a -18 °C.

## **ANEXO I.I.**

El hígado porcino está constituido por 4 lóbulos principales: lateral izquierdo (LLI), medial izquierdo (LMI), medial derecho (LMD) y lateral derecho (LLD). En el lóbulo lateral derecho (LLD), existe una protuberancia llamada proceso caudado (ver Figura A 1).

Además, se distinguen dos caras: visceral y diafragmática. La cara visceral presenta las venas que llegan al hígado y los distintos ligamentos del mismo, lo que servirá para distinguir visualmente una cara de la otra, ya que la cara diafragmática carece de dichos elementos (Cano et al., 2008).

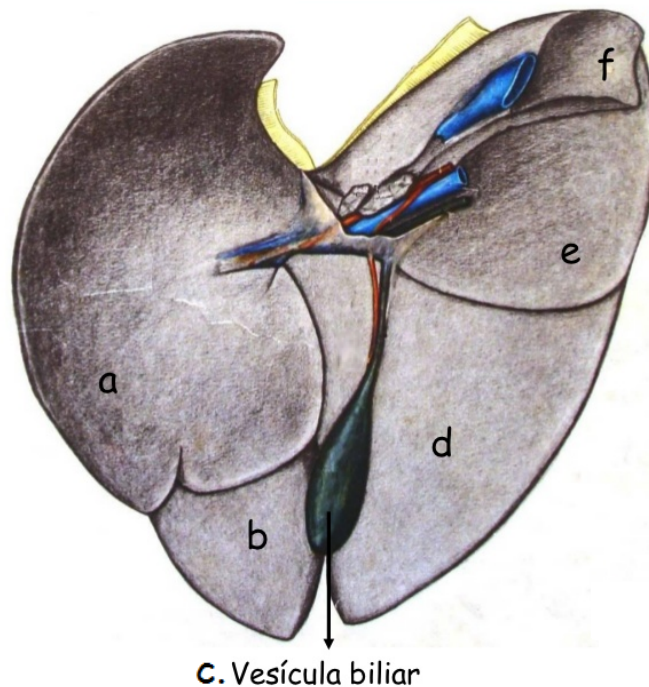


Figura A 1. Esquema de hígado porcino cara visceral. Se distingue: (a) lóbulo lateral izquierdo, (b) lóbulo medial izquierdo, (c) vesícula biliar, (d) lóbulo medial derecho, (e) lóbulo lateral derecho y (f) proceso caudado. (Fuente: Modificado de Popesko, Kolda, Fried, & Götzens García, 1998).

Los hígados que se procesan en el laboratorio carecen de vesícula biliar, ya que esta se retira previamente en el matadero, antes de la comercialización del hígado.

A continuación, se exponen fotografías de dos hígados porcinos mostrando cada una de sus dos caras, visceral y diafragmática, para que el lector se termine de familiarizar con la morfología del mismo.

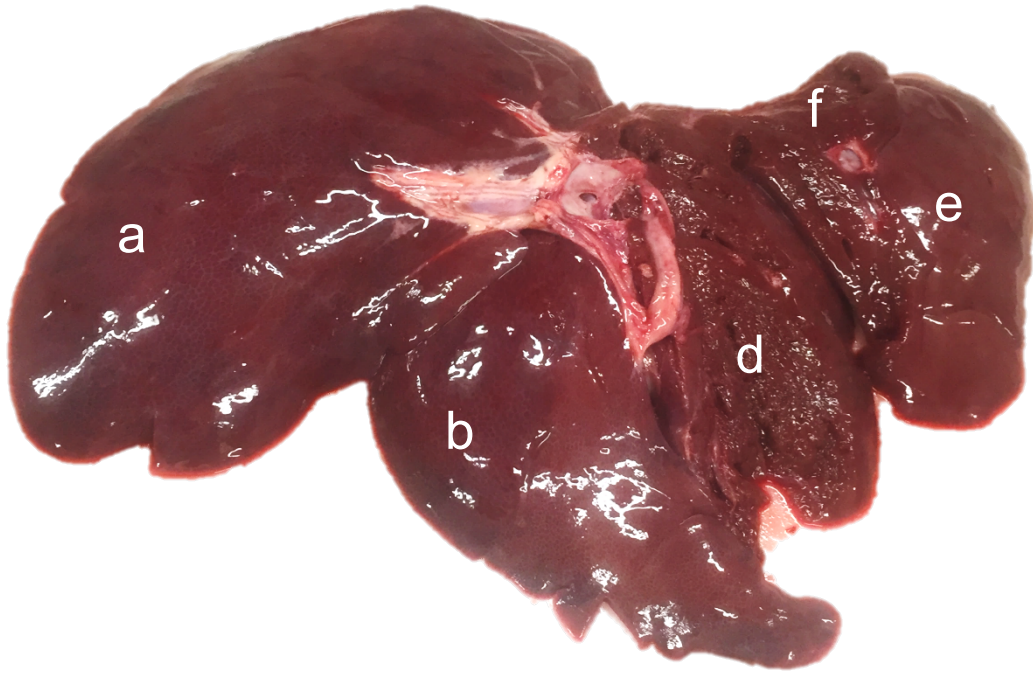


Figura A 2. Fotografía hígado 1 cara visceral. Se distingue: (a) lóbulo lateral izquierdo, (b) lóbulo medial izquierdo, (d) lóbulo medial derecho, (e) lóbulo lateral derecho y (f) proceso caudado. Sin vesícula biliar. (Fuente: Elaboración propia).

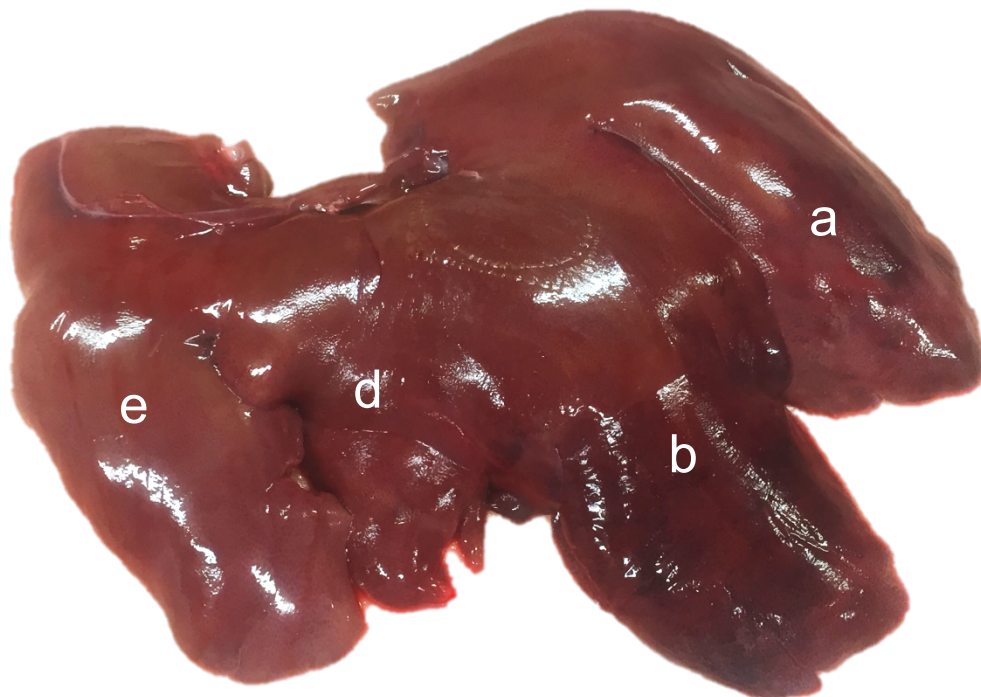


Figura A 3. Fotografía hígado 1 cara diafragmática. Se distingue: (a) lóbulo lateral izquierdo, (b) lóbulo medial izquierdo, (d) lóbulo medial derecho y (e) lóbulo lateral derecho. (Fuente: Elaboración propia).

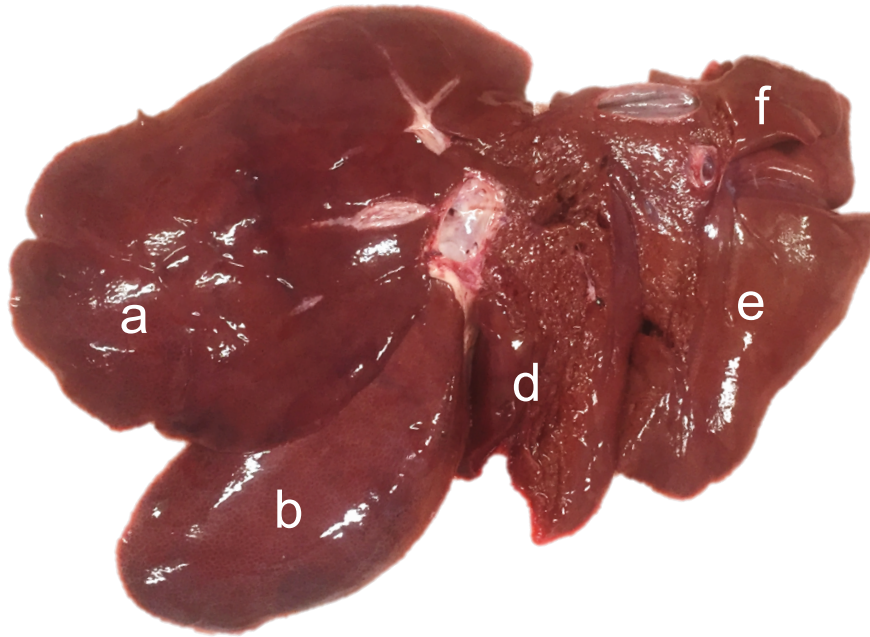


Figura A 4. Fotografía hígado 2 cara visceral. Se distingue: (a) lóbulo lateral izquierdo, (b) lóbulo medial izquierdo, (d) lóbulo medial derecho, (e) lóbulo lateral derecho y (f) proceso caudado. Sin vesícula biliar. (Fuente: Elaboración propia).

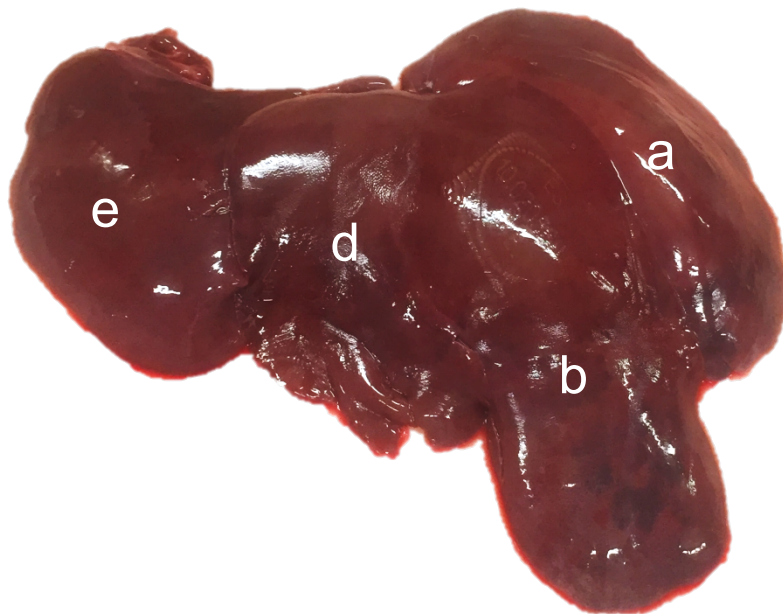


Figura A 5. Fotografía hígado 2 cara diafragmática. Se distingue: (a) lóbulo lateral izquierdo, (b) lóbulo medial izquierdo, (d) lóbulo medial derecho y (e) lóbulo lateral derecho. (Fuente: Elaboración propia).

## **ANEXO II. Preparación de muestras de hígado para el secado y determinación de humedad en hígado fresco**

### **1. Preparación de muestras de hígado para el secado**

#### **Reactivos o productos**

No se describen en este protocolo.

#### **Material**

- Cuchillo fino.
- Tabla para picar.
- Sacabocados  $\varnothing$  12,6 mm.
- Porta muestras secador (árbol) y su base.
- Escuadra marcada (a 15 mm).
- Tijeras.
- Varilla de cristal.

#### **Equipos**

- Frigorífico a 2 °C.

#### **Procedimiento**

##### *Atemperamiento del hígado*

10. Retirar del congelador a -20 °C una porción de hígado envasado al vacío procedente del acopio de hígado fresco.
11. Colocar en el frigorífico a 2 °C y esperar 3 horas antes de proceder con los siguientes pasos.

##### *Obtención de muestras para el secado*

NOTA: Los siguientes pasos deben realizarse con rapidez y precisión, debiendo completarse todos en un tiempo que en ningún caso supere los 15 min. Utilizar guantes y trabajar sobre la tabla de corte.

12. Transcurridas las 3 horas, sacar del frigorífico y retirar el envase con ayuda de las tijeras. Colocar la porción de hígado sobre la tabla.

13. Sirviéndonos del sacabocados, presionando con movimientos circulares, obtendremos un cilindro de hígado una vez perforada por completo la porción. Con la varilla de cristal, se empujará la muestra hacia el exterior del sacabocados.
14. Con el cuchillo fino se igualará perpendicularmente uno de los extremos del cilindro, procurando ser lo más preciso posible.
15. Con la escuadra, apoyando el cilindro por su extremo igualado, se cortará con el cuchillo la muestra por la línea marcada, obteniéndose así un cilindro más o menos regular de diámetro 12,6 mm y altura 15 mm.
16. Inmediatamente, colocar el cilindro en el porta muestras, atravesándolo longitudinalmente con una aguja del mismo (recordar tener tarado previamente el árbol en el equipo de secado).
17. Repetir los pasos del 4 al 7 hasta completar 15 cilindros.
18. Introducir el porta muestras en el equipo de secado y comenzar el ensayo.

## **2. Determinación de humedad en hígado fresco**

### **Reactivos o productos**

- Etanol 96 % v/v en pulverizador.
- Arena de Mar lavada.

### **Material**

- Vaso de precipitados de 500 mL.
- Pesasustancias.
- Espátula metálica fina.
- Cuchillo.
- Tabla para picar.

### **Equipos**

- Balanza analítica.
- Batidora.
- Estufa de secado por convección.

## **Procedimiento**

### *Trituración del hígado*

19. Con el cuchillo se picará una porción de hígado correspondiente a la zona central del lóbulo, de la cual se han obtenido los cilindros para la experiencia de secado.
20. La porción picada se introduce en el vaso de precipitados, con una cantidad tal que cubra su fondo, para el correcto triturado.
21. Se tritura con la batidora hasta conseguir una pasta homogénea.

### *Determinación de humedad*

NOTA: Realizar los siguientes pasos con guantes nuevos y con la bancada cubierta con papel protector.

22. Rotular adecuadamente 3 pesasustancias con su tapa, procedentes de un desecador.
23. Introducir aproximadamente 2 g de arena de mar lavada en cada uno de ellos, pesar con su tapa y anotar el peso exacto (m0).
24. Retirar cuidadosamente la tapa del pesasustancias e introducir aproximadamente 2 g del hígado triturado en cada uno de ellos, pesar con su tapa y anotar el peso exacto (m1).
25. Mezclar suficientemente con ayuda de la espátula la arena con el hígado añadiendo una pequeña cantidad de etanol. Antes de retirar la espátula, arrastrar hacia el interior del pesasustancias los restos adheridos a la misma con pulverizaciones de etanol. Cerrar con sus correspondientes tapas.
26. Colocar los pesasustancias en estufa a 105 °C hasta peso constante (24 horas). Recordar retirar la tapa de cada uno y colocar al lado una vez dentro de la estufa, antes de comenzar el proceso. Se recomienda usar una bandeja para transportar los pesasustancias.
27. Transcurridas 24 horas, tapar y retirar los pesasustancias de la estufa, colocar en desecador durante 30 minutos y pesar con sus correspondientes tapas (m2).



En el cuaderno de laboratorio se anotarán los pesos utilizando una tabla como se muestra a continuación, y el valor de la humedad se calculará como se indica:

Pesasustancias	m0 (g)	m1 (g)	m2 (g)	Humedad (%)
1				
2				
3				

$$W_i(\%) = Humedad (\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100$$

Donde:

- m0: Masa en gramos, pesasustancias + arena.
- m1: Masa en gramos, pesasustancias + arena + hígado fresco.
- m2: Masa en gramos, pesasustancias + arena + hígado deshidratado.

El valor final de la humedad se calculará como el promedio ( $\bar{W}$ ) de las tres humedades calculadas para cada pesasustancias. Además se determinará la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación (CV) que no deberá sobrepasar el 5%.

Se recuerda en este punto como realizar el cálculo de dichos parámetros:

$$\bar{W} = \frac{\sum W_i}{n}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (W_i - \bar{W})^2}{n - 1}}$$

$$CV (\%) = \frac{SD}{\bar{W}} \cdot 100$$

Siendo n igual a 3, por ser análisis por triplicado.

**Bibliografía**

Cano, F. G., Zarzosa, G. R., Florenciano, M. D. A., Albors, O. L., Reviriego, R. L., Gomariz, F. M., ... Autón, J. M. V. (2008). Anatomía interactiva del cerdo. Retrieved March 20, 2018, from <http://www.um.es/anatvet/interactividad/acerdo/indexd.htm>

Popesko, P., Kolda, J., Fried, K. J., & Götzens García, V. (1998). *Atlas de anatomía topográfica de los animales domésticos. Tomo II*. Barcelona: Masson.