



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE ALIMENTOS

Elaboración de chocolate en barra enriquecida de compuestos bioactivos por adición de extracto microencapsulado de Ganodema Lucidum, como alternativa innovadora de alimentos saludables.

**GUERRERO CENTENO DAMARIS LISSETTE
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**ARROBO MINUCHE SONIA ANDREA
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**MACHALA
2024**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE ALIMENTOS

Elaboración de chocolate en barra enriquecida de compuestos bioactivos por adición de extracto microencapsulado de Ganoderma Lucidum, como alternativa innovadora de alimentos saludables.

**GUERRERO CENTENO DAMARIS LISSETTE
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**ARROBO MINUCHE SONIA ANDREA
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**MACHALA
2024**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE ALIMENTOS

TRABAJOS EXPERIMENTALES

Elaboración de chocolate en barra enriquecida de compuestos bioactivos por adición de extracto microencapsulado de Ganodema Lucidum, como alternativa innovadora de alimentos saludables.

**GUERRERO CENTENO DAMARIS LISSETTE
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**ARROBO MINUCHE SONIA ANDREA
INGENIERA EN ALIMENTOS**

SIGUENZA TOLEDO JOAQUIN DARWIN

COTUTOR: AYALA ARMIJOS JOSE HUMBERTO

**MACHALA
2024**



ELABORACION DE CHOCOLATE EN BARRA ENRIQUECIDA DE COMPUESTOS BIOACTIVOS POR ADICIÓN DE EXTRACTO MICROENCAPSULADO DE GANODERMA LUCIDUM, COMO ALTERNATIVA INNOVADORA DE ALIMENTOS SALUDABLES.

5%
Textos sospechosos

0% Similitudes
0% similitudes entre comillas
0% entre las fuentes mencionadas

5% Idiomas no reconocidos

Nombre del documento: Tesis Arrobo_Guerrero.pdf ID del documento: abe95d7c3facc10513da5e85c4b6673642a8c65 Tamaño del documento original: 485,51 kB Autores: SONIA ANDREA ARROBO MINUCHE, DAMARIS LISSETTE GUERRERO CENTENO	Depositante: JOAQUIN DARWIN SIGUENZA TOLEDO Fecha de depósito: 8/2/2025 Tipo de carga: interface fecha de fin de análisis: 8/2/2025	Número de palabras: 9581 Número de caracteres: 62.118
---	--	--

Ubicación de las similitudes en el documento:



Fuentes principales detectadas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	repositorio.utmachala.edu.ec	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (100 palabras)
2	revistas.unicauca.edu.co Polifenoles totales de Ganoderma lucidum cultivado ... 3 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (50 palabras)
3	Documento de otro usuario #66c394 El documento proviene de otro grupo 1 fuente similar	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (40 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	dspace.udla.edu.ec Elaboración de barras de chocolate de distintos productos ...	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (17 palabras)
2	expeditiorepositorio.utadeo.edu.co	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (11 palabras)
3	Documento de otro usuario #2a9da5 El documento proviene de otro grupo	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (11 palabras)
4	repositorio.utmachala.edu.ec Comparación química de muestras de propóleo...	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (12 palabras)
5	www.utmachala.edu.ec Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud UTMACH	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (10 palabras)

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

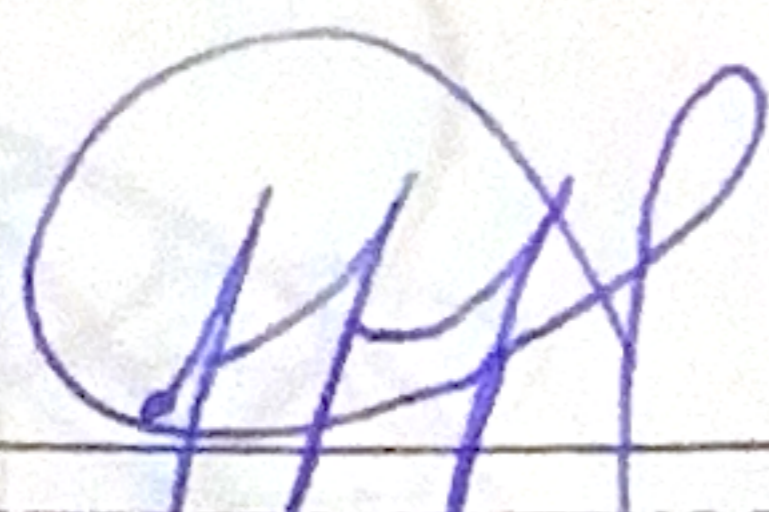
Las que suscriben, GUERRERO CENTENO DAMARIS LISSETTE y ARROBO MINUCHE SONIA ANDREA, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado Elaboración de chocolate en barra enriquecida de compuestos bioactivos por adición de extracto microencapsulado de Ganodema Lucidum, como alternativa innovadora de alimentos saludables., otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Las autoras declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

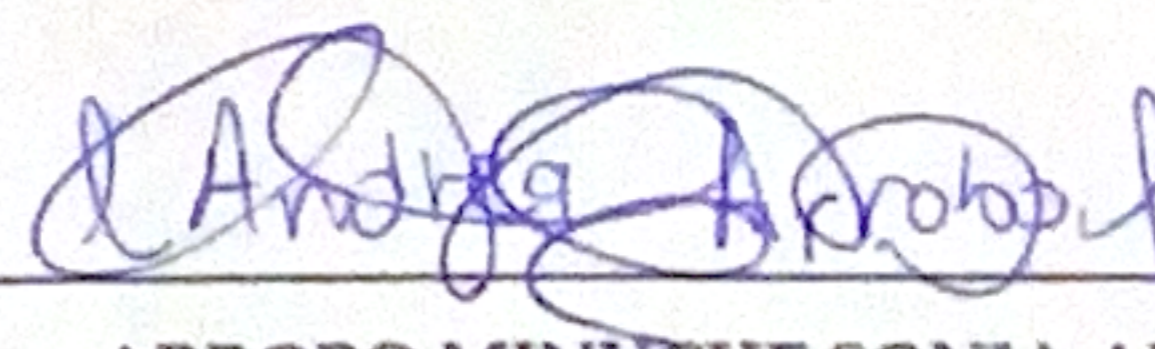
Las autoras como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



GUERRERO CENTENO DAMARIS LISSETTE

0750641987



ARROBO MINUCHE SONIA ANDREA

0751021908

DEDICATORIA

Dedico el fruto de este esfuerzo a mis padres, cuyo amor incondicional, sacrificio y apoyo han sido la base sobre la que he construido mis sueños. Gracias a ellos se valor el esfuerzo, la perseverancia y la honestidad. Cada consejo, cada palabra de aliento y cada momento en el que me ayudaron a seguir adelante fueron clave para culminar esta carrera. Este logro también es suyo.

A mis hermanas, compañeras de vida y refugio en los momentos de incertidumbre. Gracias por su amor, confianza y por ser una fuente constante de inspiración. Sus palabras de ánimo y su apoyo incondicional me han impulsado a seguir adelante, recordándome que siempre tengo un hogar en ustedes.

Y, sobre todo, me dedico este logro a mí misma. la persona que ha trabajado incansablemente, que ha enfrentado obstáculos y que, a pesar del cansancio y las dudas, ha seguido adelante con determinación. Reconozco el esfuerzo, la dedicación y la pasión que he puesto en cada página de esta tesis. Hoy celebro mis logros, mis aprendizajes y mi crecimiento, con la certeza de que este es solo el comienzo de muchos más éxitos.

Sonia Andrea Arrobo Minuche

DEDICATORIA

Dedico este trabajo, primero a mí misma por la perseverancia y esfuerzo que tuve para estudiar la carrera, en segundo lugar a mi padres y mis abuelos que con sus enseñanzas y sacrificios, estuvieron siempre presentes para mí.

Que este trabajo sea un recordatorio de todo el esfuerzo y dedicación que conllevo su elaboración, además de que pueda servir a futuras investigaciones.

Damaris Lissette Guerrero Centeno

AGRADECIMIENTO

Primero, agradezco a Dios, por darme la fortaleza, la sabiduría y la perseverancia necesarias para recorrer este camino. Por iluminar mi mente en los momentos de duda, darme paciencia en los momentos de frustración y permitir que este logro se haga realidad.

A mis padres, quienes han sido mi mayor fuente de apoyo y motivación. Gracias por su amor incondicional y por educarme de la mejor manera.

A mis hermanas, mis confidentes y mi sostén en cada paso de este camino. Gracias por creer en mí, por animarme cuando sentía que no podía más y por acompañarme con su cariño y comprensión.

A mi tutor de tesis, por su paciencia, guía y enseñanzas. Su dedicación y compromiso han sido clave para la culminación de este trabajo. Gracias por compartir sus conocimientos, por orientarme en cada etapa y por brindarme el apoyo necesario para hacer de esta tesis un proyecto sólido y significativo.

A mis amigas de la universidad, con quienes he compartido largas jornadas de estudio, desvelos, retos y alegrías. Gracias por su amistad, por su compañía incondicional y por hacer de este viaje académico una experiencia inolvidable; me llevo con orgullo cada risa, cada anécdota y cada momento compartido.

Sonia Andrea Arrobo Minuche

AGRADECIMIENTO

Al termina esta fase académica, quiero agradecer principalmente a mi tutor de tesis, por todo el conocimiento y apoyo brindado alrededor de la elaboración de este trabajo de titulación, igualmente a los demás profesores por sus valiosas aportaciones.

A mi mami y mis abuelos que siempre me ha apoyado incondicionalmente y por siempre alentarme en estos 5 años de mi carrera universitaria.

A mis amistades que hice en la universidad por apoyarme en lo que me propongo, además los conocimientos adquiridos con ellos, cuando estuvimos hasta las 6 de la tarde o las videollamadas por meet y también a mí por el esfuerzo y las noches de desvelo.

Damaris Lissette Guerrero Centeno

RESUMEN

El presente estudio se centra en la elaboración de un chocolate en barra enriquecido con compuestos bioactivos por adición de un extracto microencapsulado de *Ganoderma Lucidum*, como una alternativa innovadora en la diversificación de alimentos saludables. La investigación se justifica en la necesidad de crear un producto que no solo supla las necesidades de los consumidores, sino que también provea de beneficios a la salud, considerando las propiedades nutraceuticas de *Ganoderma Lucidum*, tales como β -glucanos y polifenoles que poseen propiedades antitumorales y antioxidantes, respectivamente. Para ello, se realizó un análisis cualitativo del hongo de estudio con el fin de conocer los compuestos bioactivos presentes en el mismo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) que dio como resultado la presencia de triterpenos (ácidos ganodéricos y lucidénicos), esteroles (ergosterol, lanosterol, campesterol, entre otros) y compuestos fenólicos (ácido gálico, ácido clorogénico, cafeico, etc.). Posteriormente se cuantificó β -glucanos y compuestos fenólicos obteniendo 16,6 % y 1,25% respectivamente; valores que sirvieron para la dosificación en la barra de chocolate. De la misma manera, se obtiene un extracto del hongo para su posterior microencapsulación con 10% de maltodextrina, el cual se incorporada en la formulación estándar de la barra de chocolate. El chocolate en barra fue elaborado con 2,35% de extracto microencapsulado de *Ganoderma Lucidum*, presentando 390 mg de β -glucanos y 422,6 mg GAE/g de compuestos fenólicos en 100 gramos de producto, lo que se encuentra dentro de los rangos de la Ingesta Diaria Recomendada (IDR). Por otro lado, el análisis sensorial del producto final se realizó con 32 panelistas semientrenados, empleando una escala hedónica a dos muestras, donde la muestra 001 representaba a la barra de chocolate con hongo y 002 considerada la muestra patrón. Posteriormente se aplicó un diseño de bloques de las respuestas tabuladas y su correspondiente ANOVA, que permitió aceptar la H_0 , al no haber diferencias significativas entre las muestras en los atributos color, sabor, cohesividad y textura, mientras que en olor se presentó diferencias representativas entre las muestras. Finalmente, se obtuvo una barra de chocolate con compuestos bioactivos como β -glucanos y compuestos fenólicos al adicionar un extracto microencapsulado de *Ganoderma Lucidum* que representa una alternativa viable para el desarrollo de alimentos saludables, sin afectar significativamente las propiedades organolépticas del producto final.

Palabras clave: *Ganoderma Lucidum*, microencapsulación, barra de chocolate, β -glucanos, compuestos fenólicos.

ABSTRACT

This study focuses on the development of a chocolate bar enriched with bioactive compounds through the addition of a microencapsulated extract of *Ganoderma Lucidum*, as an innovative alternative for diversifying health foods. The research is justified by the need to create a product that not only meets the needs of consumers, but also provides health benefits, considering the nutraceutical properties of *Ganoderma Lucidum*, such as β -glucans and polyphenols that possess antitumor and antioxidant properties, respectively. For this purpose, a qualitative analysis of the fungus was conducted to know the bioactive compounds present in the fungus by high performance liquid chromatography (HPLC) which resulted in the presence of triterpenes (ganoderic and lucidenic acids), sterols (ergosterol, lanosterol, campesterol, among others) and phenolic compounds (gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, etc.). Subsequently, β -glucans and phenolic compounds were quantified, obtaining 16.6% and 1.25%, respectively. These values were used to determine to dosage in the chocolate bar. Therefore, an extract of the fungus was obtained for its subsequent microencapsulation with 10% maltodextrin, which was incorporated into the standard formulation of the chocolate bar. The chocolate bar was elaborated with 2.35% of microencapsulated *Ganoderma Lucidum* extract, presenting 390 mg of β -glucans and 422.6 mg GAE/g of phenolic compounds in 100 grams of product, which is within the ranges of the Recommended Daily Intake (RDI). On the other hand, the sensory analysis of the final product was carried out with 32 semi-trained panelists, using a two-sample hedonic scale, where sample 001 represented the chocolate bar with mushroom and 002 was considered the standard sample. Subsequently, a block design was applied to the tabulated responses and its corresponding ANOVA, which allowed the acceptance of H_0 , since there were no significant differences between samples in the attributes color, flavor, cohesiveness and texture, while in odor there were representative differences between samples. Finally, a chocolate bar with bioactive compounds such as β -glucans and phenolic compounds was obtained by adding a microencapsulated extract of *Ganoderma Lucidum* that represents a viable alternative for the development of healthy foods, without affecting significantly the organoleptic properties of the final product.

Key words: *Ganoderma Lucidum*, microencapsulation, chocolate bar, β -glucans, phenolic compounds.

Tabla de contenido

DEDICATORIA.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
RESUMEN.....	V
ABSTRACT.....	VI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
4. OBJETIVOS.....	5
4.1 Objetivo general.....	5
4.2 Objetivo específicos.....	5
5. HIPÓTESIS.....	6
5.1 Hipótesis Nula (H_0).....	6
5.2 Hipótesis Alternativa (H_1).....	6
6. MARCO TEÓRICO.....	7
6.1. Hongo <i>Ganoderma Lucidum</i>	7
6.1.1. Generalidades del hongo <i>Ganoderma Lucidum</i>	7
6.1.2. Clasificación taxonómica.....	8
6.1.3. Partes del hongo <i>Ganoderma Lucidum</i>	8
6.1.4. Distribución de los compuestos en las partes del hongo.....	10
6.1.5. Composición química de <i>Ganoderma Lucidum</i>	11
6.1.6. Compuestos bioactivos presentes en <i>Ganoderma Lucidum</i>	11
6.1.7. Propiedades funcionales de <i>Ganoderma Lucidum</i>	12
6.1.8. Usos del hongo <i>Ganoderma Lucidum</i>	13
6.2. Cacao.....	14
6.2.1. Generalidades del cacao fino y de aroma.....	14

6.2.2. Descripción botánica	14
6.2.3. Composición físico - química de las almendras de cacao	15
6.2.4. Compuestos bioactivos presentes en el cacao	18
6.2.5. Métodos de fermentación	18
6.2.6. Proceso de fermentación.....	19
6.2.7. Secado.....	20
6.2.8. Tostado	21
6.3. Derivados de cacao	21
6.3.1. Barras de chocolate.....	21
7. METODOLOGÍA.....	23
7.1. Ubicación de la investigación	23
7.2. Materia prima	23
7.3. Preparación de la muestra	24
7.3.1. Hongo <i>Ganoderma Lucidum</i>	24
7.3.2. Extracción de los compuestos	24
7.3.3. Microencapsulación del extracto.....	25
7.3.4. Pasta de cacao.....	25
7.4. Análisis cualitativo del hongo.....	25
7.5. Cuantificación de compuestos bioactivos	26
7.5.1. Betaglucanos.....	26
7.6. Elaboración de la barra de chocolate	27
2.7. Evaluación sensorial	29
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
8.1. Análisis cualitativo de <i>Ganoderma Lucidum</i>	29
8.2. Análisis cuantitativo de <i>Ganoderma Lucidum</i> y pasta de cacao.....	32
8.3. Barra de chocolate.....	33
8.3.1. Formulación de la barra	33

8.3.2. Evaluación sensorial de la barra de chocolate	34
9. CONCLUSIONES.....	37
10. RECOMENDACIONES.....	38
10. BIBLIOGRAFÍA	39
11. ANEXOS.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional de Ganoderma Lucidum.....	7
Tabla 2. Clasificación taxonómica del hongo.....	8
Tabla 3. Taxonomía del cacao nacional fino de aroma	15
Tabla 4. Composición química de las almendras frescas de cacao	16
Tabla 5. Composición química del grano fresco, después del proceso fermentativo y secado de cacao	17
Tabla 6. Valor nutricional de las barras de chocolate.....	22
Tabla 7. Composición química de una barra de chocolate	23
Tabla 8. Formulación de la barra de chocolate.....	27
Tabla 9. Posibles compuestos presentes en extracto de Ganoderma Lucidum.....	30
Tabla 10. Análisis cuantitativo de los compuestos bioactivos	32
Tabla 11. Análisis de varianza del atributo color	34
Tabla 12. Análisis de varianza del atributo olor	34
Tabla 13. Análisis de varianza del atributo sabor	35
Tabla 14. Análisis de varianza del atributo cohesividad	35
Tabla 15. Análisis de varianza del atributo textura en la boca	36

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Partes de Ganoderma Lucidum.....	9
Ilustración 2. Distribución de los compuestos en las partes del hongo	10
Ilustración 3. Partes de la semilla de cacao	15
Ilustración 4. Proceso de fermentación del cacao o (Theobroma cacao L)	20
Ilustración 5. Diagrama de flujo del chocolate en barra	27
Ilustración 6. Cromatogramas del hongo Ganoderma Lucidum.....	29

1. INTRODUCCIÓN

El hongo *Ganoderma Lucidum*, también conocido como reishi o lingzhi, ha sido utilizado y consumido con frecuencia desde hace miles de años en la cultura china y japonesa por ser fuente de nutrientes y tener propiedades nutraceuticas que brindan beneficios en el tratamiento de enfermedades (Ahmad, 2020). Dentro de las diversas propiedades que se le pueden atribuir a esta seta se encuentran los efectos terapéuticos como antihipertensivo, antiinflamatorio, hepatoprotector, antimoral, anticancerígenos, controladores de glucosa, antibacterianos, entre otros (Delgado et al., 2023).

Por otro lado, el hongo de estudio también es utilizado cuando el sistema inmunológico se ve comprometido, debido a su efecto activador en este sistema. Además, en la actualidad este hongo no solo es consumido en fresco o seco, sino también que es utilizado para la producción de alimentos funcionales y nutraceuticos. Se considera que los efectos terapéuticos o beneficiosos del hongo se debe a la presencia de alrededor de 400 componentes bioactivos, especialmente los β -glucanos de tipo β -1,3 y β -1,6 D-glucano, que tienen un efecto inmunorregulador, los triterpenos (ácido ganodérico) que poseen potencial antitumoral - anticancerígeno y son responsables del sabor amargo en el hongo; y los compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes (Ayala et al., 2016).

La presencia de estos compuestos bioactivos conlleva a clasificar al hongo *Ganoderma Lucidum* como un alimento funcional, debido a que no solo aporta nutrientes básicos sino que también tiene elementos que contribuyen al mejoramiento de las funciones fisiológicas de los consumidores (Zhang et al., 2021).

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es cultivado en Ecuador y en varios países de Sudamérica al ser apreciado en el mercado internacional, especialmente el cacao fino de aroma producido en Ecuador, por su contenido en compuestos bioactivos que tienen un efecto antioxidante y neurotransmisor. Existen tres variedades principales: forastero, criollo y trinitario, de las cuales, se pueden obtener varios derivados, desde pasta hasta productos de chocolate.

En la actualidad, la producción de alimentos funcionales o enriquecidos con compuestos bioactivos surge ante la necesidad de crear alimentos que más allá de aportar calorías y nutrientes ejercen efectos fisiológicos en los consumidores, especialmente en la prevención de enfermedades no transmisibles, debido a que existe una demanda de productos alimenticios con características organolépticas aceptables y con propiedades benéficas.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Gran parte de los chocolates comercializados en Ecuador tienen un alto contenido de azúcar, el cual puede llegar hasta un 50% del total del producto. El contenido de pasta o licor de cacao en los chocolates tiende a ser bajo, debido a que las normas establecen un porcentaje mínimo del 10%, especialmente en los chocolates con leche. De la misma manera, la grasa utilizada en estos productos no es en su totalidad manteca de cacao, sino que se emplea una mezcla de grasas vegetales hidrogenadas, entre ellas derivadas del aceite palma, del de coco, del de girasol, entre otros (Beckett et al., 2017). Aquellas grasas vegetales sustitutas compatibles de la manteca de cacao tienen una composición similar de triglicéridos y son más económicas, por ello se usan en la elaboración de chocolate (Trelles, 2018). Sin embargo, a nivel nutricional, el empleo minoritario de la pasta de cacao y el uso de grasas vegetales hidrogenadas da lugar a un producto con bajo contenido de compuestos bioactivos (Alean et al., 2016).

La presente investigación tiene como objetivo principal la elaboración de una barra de chocolate con alto contenido en pasta de cacao con la adición de compuestos bioactivos procedentes de *Ganoderma Lucidum*, específicamente betaglucanos y compuestos fenólicos.

3. JUSTIFICACIÓN

Se justifica el presente trabajo de investigación por cuanto los compuestos bioactivos como β -glucanos y polifenoles tienen un efecto beneficioso para la salud. Las investigaciones establecen que los β -glucanos al estar constituidos por fibra no digerible, presentan varios beneficios a nivel gastrointestinal y en el sistema inmunológico; los compuestos fenólicos se relacionan con las propiedades antioxidantes. Al elaborar una barra de chocolate con la adición de compuestos bioactivos de *Ganoderma Lucidum*, más el alto contenido de pasta o licor de cacao se propone un producto alimenticio con elevado contenido en compuestos bioactivos en comparación con sus análogos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Elaborar una barra de chocolate enriquecida con compuestos bioactivos por adición de extracto microencapsulado de *Ganoderma Lucidum* como alternativa en la diversificación de alimentos saludables.

4.2 Objetivo específicos

- Analizar cualitativamente la presencia de compuestos bioactivos en *Ganoderma Lucidum*: triterpenos, esteroides y compuestos fenólicos por cromatografía de líquidos de alta resolución (High-Performance Liquid Chromatography - HPLC).
- Cuantificar los β -glucanos y compuestos fenólicos para su posterior dosificación en la barra de chocolate.
- Adicionar el extracto liofilizado de *Ganoderma Lucidum* a una formulación estándar de una barra de chocolate y evaluar su nivel de aceptabilidad sensorial.

5. HIPÓTESIS

5.1 Hipótesis Nula (H_0)

No existe diferencia significativa ($p > 0,05$) en la calidad organoléptica de una barra de chocolate adicionada de extracto liofilizado de *Ganoderma Lucidum*.

5.2 Hipótesis Alternativa (H_1)

Existe diferencia significativa ($p < 0,05$) en la calidad organoléptica de una barra de chocolate adicionada de extracto liofilizado de *Ganoderma Lucidum*.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. Hongo *Ganoderma Lucidum*

6.1.1. Generalidades del hongo *Ganoderma Lucidum*

Ganoderma Lucidum o también conocido como Reishi, es un hongo comestible caracterizado como basidiomiceto y perteneciente a la familia *Ganodermataceae* (Mingliang et al., 2019), comúnmente utilizado desde épocas antiguas en el ámbito de la salud como preventivo de varias enfermedades. Según Ramírez et al. (2019) y otras investigaciones este hongo se clasifica como «hongos silvestres comestibles» u «hongos comestibles de cultivo», los cuales se pueden cultivar a partir de residuos agroindustriales como los del plátano, madera de roble o residuos agrícolas (paja de avena, frijol, aserrín de eucalipto, entre otros) (Mingliang et al., 2019). En relación a lo anterior, Melo et al., (2015) expone que el porcentaje de los diferentes macronutrientes y micronutrientes van a variar dependiendo del lugar de cultivo o donde fueron encontrados.

Maldonado & Tobar (2023) exponen la composición nutricional del hongo que se presenta en la siguiente tabla.

Tabla 1. Composición nutricional de *Ganoderma Lucidum*

Componentes	Porcentaje (%)
Carbohidratos	44,5
Proteínas	15,75
Ceniza	4
Agua	90
Materia seca	10

Fuente: (Maldonado & Tobar, 2023; Garuba et al., 2020)

La tabla anterior detalla los porcentajes proximales de cada componente presente en el hongo de estudio, recalcando que la materia seca se encuentra conformada por 27-48% de proteínas, 60% carbohidratos (fibra dietética) y 2 – 8% de lípidos (destacándose la presencia de ácido linolénico y de ácidos grasos poliinsaturados) (Garuba et al., 2020). Por otro lado, *Ganoderma Lucidum* tiene otros componentes que permiten su clasificación como alimento funcional

(Zhang, 2021); entre los compuestos bioactivos que posee el hongo se encuentran los triterpenos, especialmente el ácido ganodérico; ciertos polisacáridos, entre ellos los β -glucanos, están presentes aproximadamente 46% en la pared celular del hongo (Fernández et al., 2020), los cuales han llamado la atención en la actualidad por sus propiedades funcionales; por último, presenta compuestos químicos con propiedades antioxidantes como los polifenoles (Veljovid, et al., 2019).

La Biblioteca Nacional de Medicina Medlineplus (2022) establece que el hongo *Ganoderma Lucidum* es utilizado en enfermedades como la diabetes, cáncer, herpes labial, Alzheimer, enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades, aunque no se cuenta con evidencia científica que respalden los usos detallados por ser aplicados en las civilizaciones antiguas.

6.1.2. Clasificación taxonómica

Camarena Rosales, (2022) establece que la clasificación taxonómica de *Ganoderma Lucidum* es la que se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 2. Clasificación taxonómica del hongo

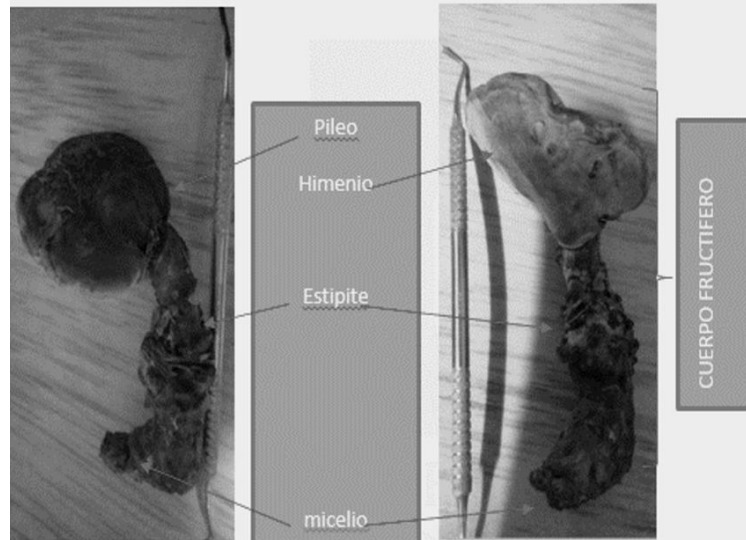
Reino	: Fungi
División	: Basidiomycota
Clase	: Agaricomycetes
Orden	: Polyporales
Familia	: Ganodermataceae
Género	: <i>Ganoderma</i>
Especie	: <i>Ganoderma Lucidum</i>

6.1.3. Partes del hongo *Ganoderma Lucidum*

Con base en las investigaciones de Sanodiya et al. (2009); Jandaik & Gupta (2022); Ramírez et al. (2021) *Ganoderma Lucidum* presenta varias partes en su estructura, agrupándolas en cuerpo fructífero y micelio. A continuación, se presenta la figura 1 que muestra las partes del hongo y

luego se detallan las estructuras pertenecientes al cuerpo fructífero o carpóforo (sombbrero, himenio y estípite) y después el micelio.

Ilustración 1. Partes de Ganoderma Lucidum



Fuente: (Ramírez et al., 2021)

Sombbrero (Pileo). A nivel general el hongo presenta una forma cachimba, en donde el sombrero es la parte superior, midiendo de 5 a 18 cm de diámetro. En algunos casos el pileo tiende a ser más grande con forma de riñón al inicio para luego ser un abanico curvado. Investigaciones establecen que el sombrero tiene una consistencia dura, leñosa, la cutícula de color ropero oscuro, caoba brillante con apariencia a barnizada (Jandaik & Gupta, 2022); a medida que va creciendo este color se va difuminando llegando a tonalidades naranja, amarillo, crema blanquecina, aclarándose hasta el borde.

Himenio. Está formado por tubos blancos, muy apretados y no separables de la carne. Sus poros, también son muy pequeños y de color blanco al principio, posteriormente crema (Ramírez et al., 2021).

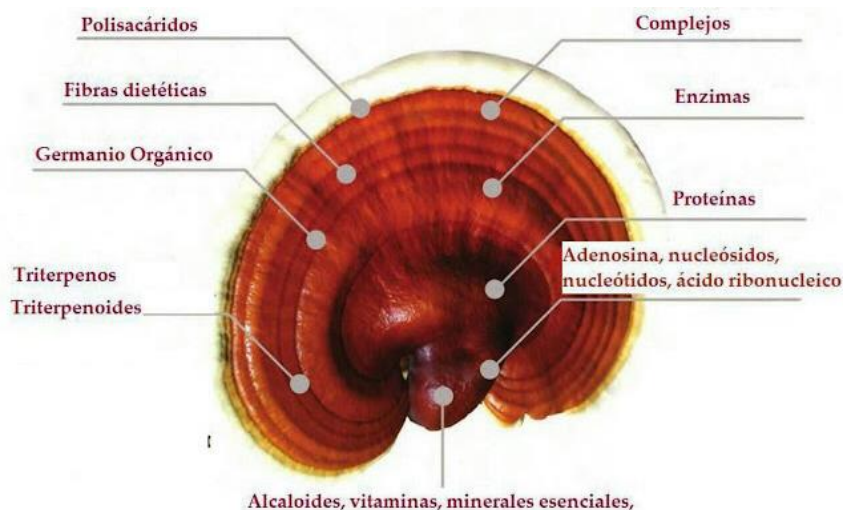
Pie. Este presenta forma de cilindro excéntrico con tendencia a ser duro e irregular, variando en formas longitudinales sinuosas. Mayormente mide 1 - 3 cm de diámetro y 3-15 cm de altura, pero otras veces puede ser casi inexistente, formando un ángulo aproximado de 90° con el sombrero. Su color tiende a ser rojo oscuro similar al del sombrero, mientras que su textura es áspera y brillante (Ramírez et al., 2021).

Micelio. Mayormente es el responsable de contener las hifas y está en contacto con el suelo, por ello es considerado como las raíces del hongo. Se encarga de la reproducción o del esparcimiento de las hifas alrededor de 1 metro cuadrado durante 30 o 60 días dependiendo de las condiciones, especialmente la disponibilidad del sustrato natural (Zhang et al., 2022)

6.1.4. Distribución de los compuestos en las partes del hongo

Según Liu et al. (2024); Li Wang et al. (2020) y Sanodiya et al. (2009) *Ganoderma Lucidum* presenta una distribución de los componentes, especialmente los bioactivos, en diferentes partes de su estructura. A continuación, se presenta la figura 2 que contiene la distribución anteriormente mencionada.

Ilustración 2. Distribución de los compuestos en las partes del hongo



Fuente: (Sanodiya et al., 2009)

Con base en la gráfica anterior y estudios previos, el hongo *Ganoderma Lucidum* presenta varios compuestos en el cuerpo fructífero o carpóforo, entre ellos se encuentra los polisacáridos, con altas concentraciones, especialmente los β -glucanos con propiedades inmunomoduladoras y antioxidantes y responsables de beneficios terapéuticos como actividad antitumoral y antiinflamatorio (Liu et al., 2024). De la misma manera, en el carpóforo se encuentran triterpenoides, compuestos lipofílicos que tienen actividad antiinflamatoria, antitumoral y hepatoprotectora, específicamente ácidos ganodéricos y lucidénicos. Por último, Li Wang et al. (2020) expone la presencia de fenoles y flavonoides, considerados como antioxidantes naturales que combaten el estrés oxidativo.

En el micelio y esporas, Li Wang et al. (2020) ha evidencia la presencia de polisacáridos específicos de las esporas, aceites esenciales, proteínas y péptidos bioactivos. También, hay presencia de triterpenos, polisacáridos y metabolitos secundarios en el micelio, similares al cuerpo fructífero, pero en menores concentraciones; por otro lado, se encuentran enzimas que descomponen celulosa y lignina, las cuales son fundamentales para la función como hongo saprófito (Sanodiya et al., 2009).

El contenido de cada sustancia o componente mencionado puede variar según las condiciones de cultivo, el tipo de sustrato y el método de procesamiento que se aplica para la extracción o cuantificación de dicho compuesto (Sulkowska et al., 2023)

6.1.5. Composición química de *Ganoderma Lucidum*

Según Bidegain (2017) existe una diversidad de acciones biológicas del hongo *G. Lucidum* que son atribuidas a los compuestos o sustancias químicas que posee, las cuales se agrupan en diferentes grupos tales como: triterpenoides, polisacáridos, proteínas y otros compuestos.

6.1.5.1. Triterpenoides: Están formados por seis unidades de isopreno y son un tipo de terpeno. En *G. Lucidum* se han identificado alrededor de 140 triterpenoides, los cuales se dividen en 10 grupos (Xia et al., 2014), siendo los predominantes los ácidos ganodéricos desde los tipos A hasta Z, los cuales están formados por cuatro isopreno cíclicas y los lineales.

6.1.5.2. Polisacáridos: La gran parte de estos compuestos en *G. Lucidum* son de alto peso molecular, sobresaliendo los β -glucanos, heteropolisacáridos y glicoproteínas (Boh et al., 2007). Mayormente los polisacáridos en el hongo de estudio son de tipo heteropolímeros constituidos por glucosa junto con xilosa, manosa, galactosa y fructosa.

6.1.5.3. Proteínas: La mayor presencia de proteínas es de tipo inmunoglobulina en conjunto con 110 aminoácidos con un amino terminal acetilado. Por otro lado, se han reportado complejos péptidos-polisacáridos que pueden tener actividad antioxidante y antitumoral.

6.1.5.4. Otros compuestos: En esta clasificación intervienen los nucleósidos y nucleótidos, especialmente adenosina, la cual tiene propiedad antiagregante. De la misma manera, existen reportes sobre la presencia de compuestos fenólicos en el hongo (Suárez et al., 2017).

6.1.6. Compuestos bioactivos presentes en *Ganoderma Lucidum*

Alrededor de 300 informes han sido publicados sobre los constituyentes químicos de *G. Lucidum* y especies relacionadas. Tanto en el cuerpo fructífero como los micelios y las esporas del hongo de estudio contienen alrededor de 400 compuestos bioactivos diferentes, que influyen los polisacáridos, lecitinas, esteroides, ácidos grasos, triterpenoides, vitaminas, nucleótidos, entre otros (Deepalakshmi y Mirunalini, 2011)

6.1.6.1. β -glucanos

G. Lucidum está compuesto por una cantidad significativa de β -D-glucanos, que son polisacáridos de la molécula D-glucosa vinculadas entre sí por enlaces glucosídicos α o β . Bhakta y Kumar, (2013) establece que, β -D-glucanos consisten en grupos de D--glucopiranosil

con enlaces de β -(1 \rightarrow 3) en diferentes ramificaciones, formando una columna vertebral de tipo lineal. Por otro lado, Mohan et al. (2016); Suárez et al. (2017) han aislado β -D-glucanos hidrosolubles que contienen núcleos de glucano ramificado en enlaces tipo (1 \rightarrow 3)- β , (1 \rightarrow 4)- β , y/o (1 \rightarrow 6)- β . Adicionalmente, se obtuvieron otros β -glucanos con cadenas heteropolisacáridos de xilosa, manosa, galactosa, ácido urónico y complejos β -D-glucanos - proteína, presentes en un 10 - 50% en *G. Lucidum* seco (Wasser, 2005).

Varios estudio in vivo e in vitro demuestran que los polisacáridos del hongo de estudio presentan propiedades antitumorales, aparte de modular la función inmune, mediante el impulso de la función de las células presentadoras de antígeno, el sistema de fagocitos, inmunidad humoral y la celular (Wasser, 2005). De la misma manera, esta presenta bioactividad asociada a los efectos antiinflamatorios, hipoglucémicos, antiulcerosos y hepatoprotectores (Chithra et al., 2016).

6.1.6.2. Polifenoles totales

Lin & Deng, (2019) establece que, *G. Lucidum* tiene propiedades relacionadas a la eliminación de radicales libres asociadas a su mecanismo terapéutico para la prevención y tratamiento de enfermedades como bronquitis crónica, hipertensión, diabetes y envejecimiento. Por ello, la función principal de los productos de *G. Lucidum* es inhibir las especies reactivas de oxígeno (ROS) por medio de las actividades de varios compuestos como los fenoles (Oludemi et al., 2018). Santillán et al., (2017) considera que la actividad antioxidante en basidiomicetes se relaciona con la presencia de compuestos de bajo peso molecular, es decir, los fenoles. No obstante, dicha actividad también se atribuye al contenido de triterpenos y polisacáridos de alto peso molecular.

Mueses et al., (2022) analiza el contenido de compuestos fenólicos presentes en extractos alcohólicos y acuosos de *G. Lucidum* mediante el método Folin Ciocalteu, obteniendo valores promedios de 32,44 y 25,11 mg GAE/g para extracto acuoso y alcohólico respectivamente. Otros investigadores como Rašeta et al. (2016) determinaron el contenido de fenoles en extracto acuoso del cuerpo fructífero del hongo de estudio en donde obtuvieron un valor de 11,38 mg GAE/g, mientras que Mishra et al. (2014) reportaron a partir de un extracto metanólico de *G. Lucidum* 28,27 mg GAE/g en peso seco.

6.1.7. Propiedades funcionales de *Ganoderma Lucidum*

El hongo *G. Lucidum* posee una gran variedad de compuestos bioactivos, lo cual hace que se considere como un alimento funcional (Cano & Romero, 2016), debido a que diversos estudios

demuestran que el consumo del hongo o un extracto de este tiene un impacto positivo en varias funcionales del organismo; Zhan, (2021) expone propiedades asociadas a la prevención de enfermedades relacionados con el envejecimiento y como colaborador en el tratamiento del cáncer. Con base en la investigación de Costa et al. (2012) y Lee et al. (2011), los triterpenos presentes en *Ganoderma* son inhibidores preferenciales de acetilcolinesterasa, lo que permite incrementar la transmisión neuromuscular.

Por otro lado, Chan et al. (2015) en su investigación encontró en el hongo de estudio que los proteoglicanos tienen actividades antidiabéticas por los triterpenos presentes, propiedades antihiperlipidémicas por la presencia de esteroides, especialmente el ergosterol y colesterol que el *G. Lucidum* posee, y compuestos con acción antioxidante como los compuestos fenólicos. Adicionalmente, los polisacáridos de alto peso molecular se utilizan como agentes prebióticos en la prevención de disbiosis intestinal y los trastornos metabólicos asociados a la obesidad; además, estimulan el sistema inmune al incrementar la producción de citocinas y la actividad anticancerosa de las células inmunes (Ríos, 2008).

Otros experimentos realizados por Tie et al. (2012) demuestran que *Ganoderma Lucidum* mejora el retraso de la cicatrización de heridas suprimiendo el estrés oxidativo mitocondrial, lo cual también se refleja en el trabajo realizado por Zhang et al. (2021).

6.1.8. Usos del hongo *Ganoderma Lucidum*

Las investigaciones realizadas por Kulshreshtha et al. (2013); Paredes (2019) y Savoie et al (2008) muestran que el *G. Lucidum* ha sido utilizado en la elaboración de alimentos, especialmente para el desarrollo de alimentos funcionales por las propiedades nutraceuticas que posee, en donde no solo suple el valor nutricional básico, sino que también brinda beneficios adicionales para la salud del consumidor. Uno de los usos es en las bebidas funcionales como el té, el café y la cerveza, en donde aporta con compuestos bioactivos, específicamente betaglucanos, triterpenos, esteroides y compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes.

Otros estudios analizan la adición de extracto del hongo en productos fermentados como el yogurt para mejorar el perfil antioxidante y apoyar en la salud digestiva. En los productos horneados como panes, pasteles, entre otros, aportan una mejora en la retención de gases y evitan la retrogradación del almidón. Por último, el uso de *G. Lucidum* en suplementos alimenticios en polvo mejora el perfil nutricional y brinda beneficios inmunológicos (Paredes, 2019).

6.2. Cacao

6.2.1. Generalidades del cacao fino y de aroma

El cacao fino y de aroma presenta sabores que abarcan las notas frutales, florales, herbáceas, nueces, de madera o caramelo, obtenidos por la producción exclusiva a partir de los tipos Trinitario, Criollo y Forastero (Nacional en Ecuador) (Chetschik et al., 2018). Según Arvelo et al. (2016) en la evaluación de la calidad del cacao fino se utilizan criterios como: origen genético, propiedades morfológicas de las plantas, características químicas, color de las almendras, sabor, grado de fermentación, humedad y acidez. Considerando que solo a partir de ciertos tipos de plantas se puede obtener cacao de fino aroma se detallan las características de ellos.

6.2.1.1. Trinitario: Tiene su origen en la isla Trinidad y se desarrolla a partir de las hibridaciones naturales entre el Criollo y el Amellonado Forastero, presentando más aromas que el Forastero y mayor resistencia con relación al Criollo (Morales et al., 2015). Afoakwa (2008) explica que las almendras del Trinitario tienen un color variable, con poca tendencia a ser blancas, pero con caracteres básicos de chocolate y un aroma asociado a bodega que no se presenta en otras variedades.

6.2.1.2. Criollo: Se origina en el norte de Sudamérica y Centroamérica, con características relevantes en el sabor siendo este suave y aromático, mientras que las vainas tienen una cáscara fina, suave, superficie texturizada en conjunto con cierta pigmentación roja (Bhattacharjee, 2018). Badrie et al. (2015) expone que las almendras o cotiledones tienen tendencia a ser blancas marfil o púrpura claro por la baja concentración de antocianinas; esta variedad puede ser susceptible a enfermedades y no son vigorosas.

6.2.1.3. Nacional: Según Abad et al. (2020), esta variedad ha permitido el reconocimiento de Ecuador en mercados internacionales, siendo característico de aromas y sabores por el grupo genético particular, las condiciones climáticas o geográficas y el lugar de producción. Boza et al. (2014) determina que las almendras tienden a ser grandes, una pulpa sabor a dulce; aquellos cotiledones fermentados tienen baja acidez, poco amargor y un sabor afrutado - floral, con coloración similar a violeta o lila.

6.2.2. Descripción botánica

Conbase en lo reportado por Rusconi & Conti (2010) y Fowler (2000), el cacao (*Theobroma cacao L.*) es un árbol tropical perennifolio diploide, perteneciente a la familia Malvaceae siendo

nativo del neotrópico húmedo entre latitudes 20 N y 20S de la línea ecuatorial, originario de América del Sur y Central, en la selva tropical de la chimbo del Amazonas. Este árbol presenta hojas perennes que miden alrededor de 300 mm de largo, las flores y frutos crecen próximas al tronco y en las ramas más gruesas.

6.2.2.1. Taxonomía del cacao

Según Montes Mosquera (2016) la taxonomía del cacao se presenta en la Tabla 4.

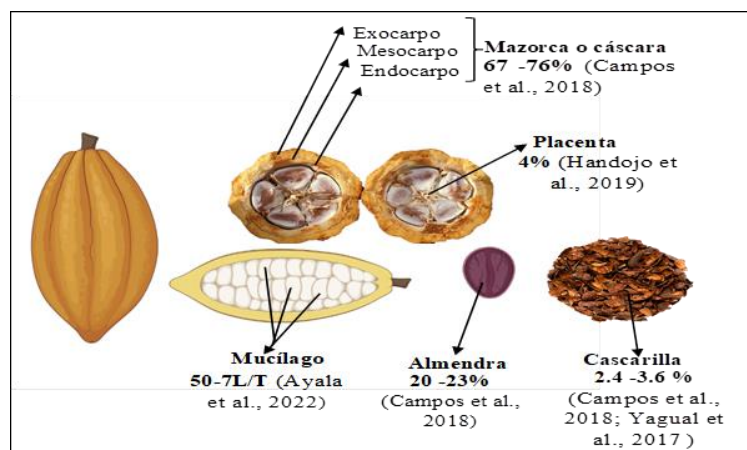
Tabla 3. Taxonomía del cacao nacional fino de aroma

Nombre científico	: <i>Theobroma cacao</i>
Reino	: Plantea
División	: Magnoliophyta
Clase	: Maggnoliopsida
Orden	: Malvales
Familia	: Malvaceae
Género	: <i>Theobroma</i>
Especie	: <i>Theobroma cacao L.</i>

6.2.3. Composición físico - química de las almendras de cacao

Botánicamente el fruto del árbol de cacao es una drupa indehiscente con forma ovalada, midiendo aproximadamente 12 - 30 cm y contienen 30 - 40 almendras unidas por la placenta e incrustados en la pulpa mucilaginoso (Schwan & Wheals, 2004), el cual representa 40 % próximas del peso fresco de la almendra. Por otro lado, las almendras de cacao tienen un largo aproximado de 1,5 - 3 cm y ancho de 1 - 1,5 cm, presentando forma ovoide y plana en un lado fuertemente curvado, encontrándose rodeada de la pulpa del fruto y unida a una cáscara de la semilla endurecida con el fin de proteger al embrión. Mayormente el embrión se encuentra compuesto de dos cotiledones grandes destinado al almacenamiento, un pequeño hipocótilo, una radícula y el micropilo (Fig. 3) (Kadow, 2020).

Ilustración 3. Partes de la semilla de cacao



Fuente: (Vega et al., 2024)

Afoakwa (2016) confirma que la testa o cáscara de cacao actúa como barrera semipermeable para el flujo de sustancias entre la semilla y la pulpa de la fruta. Varias investigaciones establecen que la cáscara es permeable al agua, etanol, ácido acético-láctico y otros compuestos orgánicos volátiles. Por su parte, el cotiledón conocido por atribuir características de sabores - aromas a chocolate, está formado por dos tipos de células de almacenamiento, en donde, las células polifenólicas tienen una vacuola grande llena de polifenoles y alcaloides, encontrándose mayormente cafeína, teobromina y teofilina (Lopez & Dimic, 1995). Las células de proteínas lipídicas contienen citoplasma empaquetado con varias vacuolas pequeñas destinadas para almacenar proteínas, lípidos y componentes como los gránulos de almidón (Fig. 4). Todos los componentes mencionados tienen su papel en la definición de caracteres del sabor y aroma en el cacao.

Por otro lado, la composición química de las almendras de cacao van a diferir dependiendo de las condiciones de cultivo, el clima, lugar de origen, variedad y las condiciones del suelo. Con relación a esto, se presenta la Tabla 4 que contiene la composición química de las almendras de cacao con un rango de porcentajes, considerando el rango inferior y superior de la investigación realizada por Perea (2019).

Tabla 4. Composición química de las almendras frescas de cacao

Componentes	Porcentaje (%)
Agua	32 - 39
Grasa	30 - 32

Proteínas	10 -15
Carbohidratos	12 - 14
Polifenoles	5 - 6
Almidón	4 - 6
Celulosa	2 - 3
Teobromina	1 - 2
Ácidos orgánicos	1

Fuente: (Perea, 2019)

Por otra parte, las investigaciones de Villamil et al. (2016), Ludisaca (2017) analizan la composición química de las almendras de cacao frescas, después del proceso de fermentación y secado del cacao; los resultados de dichos trabajos se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición química del grano fresco, después del proceso fermentativo y secado de cacao

Componente	Grano fresco (%)	Después del proceso fermentativo y secado (%)
Manteca de cacao	30 -32	54
Proteína	10 – 15	11,5
Celulosa	2 -3	9
Almidón	4 – 6	7,5
Hidratos de carbono	12 – 14	10,5
Agua	32 – 39	5
Ácidos orgánicos	9,5	2
Polifenoles	5 – 6	1
Teobromina	1 – 2	0,2

Fuente: (Villamil, 2019; Ludisaca, 2017)

6.2.4. Compuestos bioactivos presentes en el cacao

6.2.4.1. Polifenoles totales

Las semillas de cacao tienen una gran cantidad de compuestos fenólicos, en donde cerca del 15% del peso en almendras de cacao secas representan los polifenoles totales, similares al contenido de dichos compuestos en las verduras, vino y té (Loja Atariguana & Montesdeoca Loja, 2022). Mayormente los polifenoles se encuentran en las células polifenólicas, dividiéndose en tres grandes grupos distintos, las antocianinas (4%), las catequinas y flavonoides (37%) y las proantocianidinas (58%). En las catequinas, el componente con mayor presencia son las epicatequinas, con alrededor del 98%, mientras que la proantocianidina es el componente fenólico mayoritario en las semillas de cacao (Vázquez-Ovando et al., 2016).

Los compuestos fenólicos son considerados como no esenciales para la conservación de las plantas al ser metabolitos secundarios, aunque a pesar de esto, otorga actividades en las estructuras químicas debido a que perciben más de 8000 componentes diferentes, demostrando su poder antioxidante (Vázquez-Ovando et al., 2016).

6.2.5. Métodos de fermentación

6.2.5.1. Cajones de madera: El proceso de fermentación se realiza en cajones de madera que tengan resistencia y disposición en el suelo para el drenaje de los lixiviados y a su vez acceso al aire. Wood & Lass (2008) consideran que, para conservar el calor de los granos en la caja se puede colocar hojas de plátano o arpillera, girando durante 6 -8 días. Por otro lado, en este método de fermentación, factores como la profundidad de la masa de almendras (espesor mínimo de 20 cm) y la duración del proceso, afectan la fermentación del cacao.

6.2.5.2. Sacos: Consiste en colocar masa de cacao en bolsas de polipropileno o sacos de yute cubiertos con hoja de plátano por un tiempo de 3 días con una remoción de 24-48 horas (Sánchez et al., 2019).

6.2.5.3. Rumas o montones: Para este método, Ganeswari et al. (2015) describe la conformación de una base con estacas en desnivel. Sobre esta se colocan hojas de plátano perforadas o ramas de palma. Encima de las hojas se depositan los granos de cacao fresco para formar un montón cuyo diámetro y altura van a depender de la cantidad de grano. Una vez realizada la ruma se colocan hojas de plátano o sacos de yute con el fin de conservar la temperatura de la masa.

6.2.5.4. Tambor rotatorio: Se fermentan 250 kg de almendras de cacao, requiriendo un lugar cubierto con ventilación y piso que tenga canales para el drenaje del exudado. Cada 24 horas se remueve el cacao sin ayuda por las paletas internas que realizan este trabajo (Teneda, 2016).

6.2.6. Proceso de fermentación

6.2.6.1. Fase anaeróbica

La duración de esta fase es de aproximadamente 24 - 48 horas, en donde la pulpa que rodea la almendra (contiene azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa) da lugar al proceso de fermentación, considerando el crecimiento de levaduras como: *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora opuntiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia kluyveri* y *Pichia kudriavzevii* (Hamdouche et al., 2019). Al empaquetar de manera apretada la masa, es decir pulpa - almendras de cacao, en conjunto con la actividad metabólica de las levaduras permiten el desarrollo de las condiciones anaeróbicas; con ello, las levaduras descomponen los azúcares de la pulpa convirtiéndolas en alcohol, especialmente etanol. Además, las levaduras secretan pectinasa, lo que conlleva a la licuefacción de la pulpa, provocando el drenaje de un líquido denominado como sudor (De Vuyst & Weckx, 2016). De esta manera, se reduce la viscosidad y a su vez da lugar a la entrada de aire en la masa de fermentación (Fig. 5)

Crafack et al. (2014) confirma que los microorganismos como *P. kluyveri* producen grandes cantidades de ésteres con características de aroma afrutado, mientras que las especies de *Pichia*, *Candida* y las bacterias lácticas heterofermentativas metabolizan el ácido cítrico, lo que genera un ligero aumento en el pH de la pulpa que, en conjunto con el incremento de la tensión de oxígeno permite el desarrollo de BAL (Bacterias ácido lácticas) que van a generar el ácido láctico.

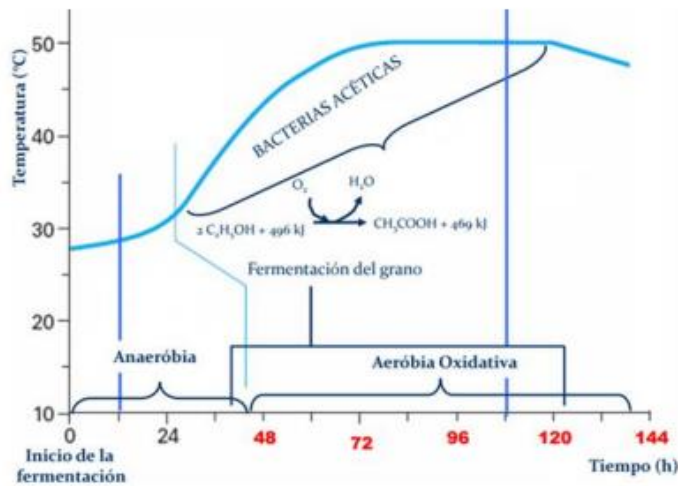
6.2.6.2. Fase aeróbica

A medida que avanza la fermentación, la pulpa de las almendras se reduce, mientras que la temperatura y el nivel de aire van aumentando dentro de la masa de fermentación. Al ya tener disponibilidad de oxígeno, bacterias como acetobacterias o BAA (Bacterias del ácido acético) empiezan a dominar en la fase aeróbica (De Vuyst & Leroy, 2020).

Según Lieberei et al. (2013), el ácido acético se considera el principal metabolito producido a partir de una reacción exotérmica que comienza al oxidar el etanol y ácido láctico realizado por las BAA, alcanzando temperaturas superiores a 48-50 °C. La entrada del ácido acético en las almendras tiene lugar después del hinchamiento de la almendra y la apertura del micropilo (Fig 4.). Tanto el etanol como el ácido acético al difundirse por la almendra provocan la muerte del

embrión, lo que desencadena una actividad endógena al tener una ruptura de las paredes y membranas celulares que son relevantes para la formación de precursores del sabor, los cuales son modificados por la degradación de Strecker y la reacción de Maillard en el secado y tostado (Hernández et al., 2016).

Ilustración 4. Proceso de fermentación del cacao o (Theobroma cacao L)



Fuente: (Burbano, 2020)

6.2.7. Secado

Varias investigaciones establecen que el cacao se puede secar de manera natural o artificialmente, hasta tener una humedad del 7 %, con el fin de continuar con algunas reacciones bioquímicas que dan lugar a la formación de precursores de sabor. Paredes et al. (2022), establece que el contenido de humedad en los granos no debe sobrepasar el 8 % por la posible formación de mohos, ni tampoco debe ser menor al 6 %, puesto que se vuelven frágiles y quebradizos.

6.2.7.1. Secado natural: El método consiste en extender los granos de cacao sobre plástico, esteras de madera o suelos de hormigón, exponiendo los granos al sol durante un tiempo prolongado, alrededor de 7 a 22 días dependiendo de las condiciones meteorológicas (Dzelagha et al., 2020). Se requiere de voltear regularmente los granos para tener uniformidad en el secado.

6.2.7.2. Secado artificial: Se emplea un ventilador o secador, con el objetivo de conducir aire a través de elementos de calefacción, lo cual calienta los granos de cacao y permite la reducción de humedad o el secado de las almendras fermentadas (Musa, 2012). Mayormente se utilizan hornos, considerados como secadores sencillos que emplean calor para secar los granos de cacao extendidos en bandejas por aire caliente externo (Zulkarnain et al., 2020).

Durante el proceso de secado muchos compuestos fenólicos y el contenido de teobromina tiende a disminuir al ser considerados como compuestos volátiles, mientras que ciertas proteínas se desnaturalizan o se transforman en aminoácidos libres por la temperatura empleada para el secado. Por otra parte, durante este proceso una parte del ácido láctico se pierde pero el ácido acético se mantiene (Alean et al., 2016).

6.2.8. Tostado

El proceso de tostado desempeña varias funciones a nivel físico-químico y sensorial, debido a que el proceso ayuda a ablandar y separar la testa de los granos de cacao, volviéndola más quebradiza; así mismo, se desarrolla más el sabor a cacao o característico a chocolate con base en los compuestos que se desarrollaron durante el proceso de fermentación y secado (Vázquez et al., 2016). Alrededor de 600 compuestos se han identificado durante el proceso de tostado en donde se incluyen alcoholes, ésteres, furanos, pironas, iminas, oxazoles entre otros (Rojas S et al., 2020). En el proceso de tostado, las almendras de cacao secas se calientan desde una temperatura ambiente hasta llegar a 110–160 °C, siendo las principales reacciones que afectan a las almendras la reacción de Maillard, caramelización, oxidación de lípidos y la degradación oxidativa de compuestos fenólicos.

6.3. Derivados de cacao

Existen una variedad de productos derivados del cacao, en donde sobresalen la elaboración de chocolates y cacao en polvo azucarado. Dentro de los chocolates se encuentran agrupados diversos productos desde las tabletas o barras de chocolate hasta bombones sin o con relleno, trufas, frutos secos cubiertos de chocolate, entre otros (Sánchez, 2022). Por otro lado, actualmente se comercializan pluma (nibs) de cacao que consisten en fragmentos de granos de cacao tostado y descascarillados; también se produce la manteca de cacao que es utilizada en la elaboración de chocolates. De la misma manera, la cascarilla de cacao es empleada en infusiones con sabor a chocolate, mientras que el mucílago o pulpa es utilizada para elaborar jugos, mermeladas, vinagres y bebidas fermentadas (Medina, 2022)

6.3.1. Barras de chocolate

6.3.1.1. Generalidades de las barras de chocolate

Urbina & Pérez (2020) definen que el chocolate es un alimento que se forma por la suspensión semisólida de partículas de azúcar, cacao y leche según el tipo de chocolate. Este producto

alimenticio contiene una fase grasa que abarca un 70 % del contenido total aproximadamente. El estado del chocolate es sólido a temperaturas de 20– 25 °C y a temperatura corporal (37°C) se funde produciendo una suspensión agradable en sabor y textura. Por otro lado, existen varios factores que se consideran al elaborar un chocolate, entre ellos la variedad del cacao, el origen de este, procesamiento y el tipo de chocolate por elaborar (Lagla, 2015).

Las barras de chocolate están elaboradas a partir de una mezcla de pasta-manteca de cacao y azúcar, aunque también se pueden añadir otros ingredientes como leche, vainilla, frutas, etc. A nivel mundial, es un producto de alto consumo encontrándose en tiendas de dulces o confites (Villegas, 2018). Una barra de chocolate tiene características basadas en su forma, tamaño, color, textura, sabor, aroma, porcentaje de cacao y envoltorio, las cuales son relevantes en la evaluación de la calidad del chocolate.

Con base en el Código Alimentario Español, el chocolate es caracterizado por tener una gran cantidad de calorías, debido a su contenido graso y azúcares; la diferencia entre cada barra de chocolate radica en el contenido de azúcares, teniendo un mayor valor nutricional aquellas barras con menor contenido en azúcar. La Tabla 6 muestra el valor nutricional de los tipos de chocolate.

Tabla 6. Valor nutricional de las barras de chocolate

Tipos de chocolate	Energía (kcal/100g)	Grasas (g/100g)	Grasas saturadas (g/100g)	Azúcares (g/100g)
Chocolate negro	520	6	21	42
Chocolate con leche	534	31	18	54
Chocolate blanco	566	33	20	56

Fuente: (Villegas, 2018)

6.3.1.2. Composición química de la barra de chocolate

Amador et al. (2020) estudia la composición química de una barra de chocolate amargo producido en Ecuador, en donde la concentración de cacao es mayor al 35 % y se considera el porcentaje de licor, sólidos y manteca. La Tabla 7 muestra los resultados de dicha investigación.

Tabla 7. Composición química de una barra de chocolate

Parámetro	Porcentaje (%)
Humedad	1,42
Cenizas	1,53
Proteína cruda	6,41
Extracto étere	30,7
Fibra cruda	1,65
Carbohidratos	58,29

Fuente: (Amador et al., 2020)

7. METODOLOGÍA

7.1. Ubicación de la investigación

La investigación se realizó en los laboratorios de Bioconversión LI - BC, área de fitoquímica LI - FQ, área de alimentos LI - AL, adscritos a la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala, ubicada en el kilómetro 5 ½, vía Machala - Pasaje, provincia de El Oro.

7.2. Materia prima

El hongo *Ganoderma Lucidum* utilizado para desarrollar el proceso experimental del presente trabajo fue obtenido en las áreas verdes de la Facultad de Ciencias Sociales de la Universidad Técnica de Machala. El cacao con el que se trabajó es de variedad Nacional que pertenece a los Forasteros, el cual se obtuvo de la finca «Los Naranjos» ubicada en el cantón Camilo Ponce Enríquez, provincia del Azuay. La manteca de cacao, panela, leche en polvo y lecitina de soya fueron adquiridos en el Mercado Sur de la ciudad de Machala.

7.3. Preparación de la muestra

7.3.1. Hongo Ganoderma Lucidum

Se inició con la recepción del hongo Ganoderma Lucidum, asegurando que no hubiera daños en la seta. Luego se realizó una limpieza del hongo, eliminando partículas extrañas. Se determinó el peso total del hongo para luego realizar un troceado en un tamaño proximal de 3 cm. Los trozos de hongos fueron colocados en bandejas metálicas del liofilizador BK-FD10P (BIOBASE, Jina, China), pasando por un proceso de ultracongelación en la cámara del equipo por 24 horas, llegando a una temperatura aproximada de $-64,8^{\circ}\text{C}$. Más tarde, las muestras fueron puestas en el estante de la cámara de liofilización, colocando en la superficie de las muestras el sensor de temperatura y asegurando con la banda de silicona el cubo acrílico del equipo. Con estas acciones realizadas, se enciende el vacuómetro y la bomba de vacío. El liofilizado de las muestras fue por 24 horas hasta obtener una presión final de 22 Pa. Al finalizar el proceso, el hongo liofilizado fue pulverizado en un desintegrador HSD - 400A (BIOBASE, Jinan, China) por un tiempo aproximado de 5 minutos, verificando la obtención de un polvo.

7.3.2. Extracción de los compuestos

Se pesan 50 g de polvo de hongo liofilizado y se lo coloca en un matraz de Erlenmeyer de 1L, adicionando 850 mL de alcohol al 60%. Con la ayuda de una varilla se homogeniza la muestra. Luego, la muestra pasó por un baño ultrasónico ULTRASONIC BATH 5.7 L (Fischer Scientific, Ciudad de México, México) a una intensidad de 40 KHz durante 10 minutos, considerando una temperatura de 30°C en el agua del baño maria y 27°C en la muestra.

Más tarde, la muestra es filtrada con un lienzo para separar la parte no sólida de la parte soluble. El líquido obtenido se vuelve a filtrar por un papel filtro PL58X58 Liso MN713 y se coloca en un balón de 2000 mL para eliminar el alcohol presente en el extracto en un rotavapor HEIDOLPH LABOROTA 4001 (Heidolph Instruments, Schwabach, Alemania) a una temperatura de 39°C durante 90 min, acoplado a un criostato LAUDA/ALPHA RA-8 (LAUDA, Lauda-Königshofen, Alemania) que se mantiene a una temperatura de -40°C y una bomba de vacío VACUUBRAND PC600 (Vacuubrand, Wertheim, Alemania) iniciando con una presión de vacío 475 mbar y terminando con una presión de 4 mbar, hasta obtener un extracto acuoso que fue liofilizado, para ser utilizado en el análisis cualitativo (cromatografía de líquidos) y en la determinación de compuestos fenólicos.

7.3.3. Microencapsulación del extracto

El extracto acuoso obtenido en el rotavapor fue microencapsulado con maltodextrina con dextrosa 10-15 al 10% con la finalidad de poder manipular y dosificar en la barra de chocolate. Para ello, se mezcló el extracto acuoso con la maltodextrina y se liofilizó en las mismas condiciones de la materia prima (hongo).

7.3.4. Pasta de cacao

Las vainas de cacao de la variedad nacional fueron cosechadas en la finca «Los Naranjos» ubicada en el cantón Camilo Ponce Enríquez, provincia del Azuay. Cada mazorca fue seleccionada con base en el estado de madurez. Luego, las vainas se partieron y se fermentaron mediante el método tradicional por 11 días, de los cuales 6 fueron de fermentación alcohólica y 5 de acética. Más tarde, las vainas fermentadas se secaron a temperatura ambiente (25 - 28°C) hasta alcanzar la humedad de 7-8%. El tueste se realizó a 130°C por 30 minutos en un horno (Ecuahorno, Quito, Ecuador); el descascarillado fue manual y la molienda se realizó en un molino de tornillo helicoidal L14200 (Corona, Medellín, Colombia), obteniéndose una pasta o licor de cacao.

7.4. Análisis cualitativo del hongo

Las muestras se disolvieron en metanol (10 mg/mL) y se filtraron a través de un filtro de membrana de 0,2 µm. El análisis mediante CLAE se realizó en un sistema Dionex Ultimate 3000 UPLC (Thermo Scientific, San Jose, Estados Unidos) equipado con un detector de arreglo de diodos y acoplado a un detector de masas. La separación se desarrolló usando una columna Accucore RP-MS (100 mm x 2,1 mm; 2,6 µm) protegida por su cartucho (4 mm x 2,0 d.i.) y la temperatura se mantuvo a 35 °C. La fase móvil estuvo constituida de acetonitrilo (A) y 0,1 % de ácido fórmico (B), y se empleó el siguiente modo en gradiente: 10% A (0-1 min), 10-35% A (1-3 min), 35% A (3-5 min), 35-55% A (5-7 min), 55%A (7-8 min), 55-75%A (8-12 min), 75%A (12-14 min), 75-95 %A (14-17 min), 95 %A (17-18 min) y recuperación de las condiciones iniciales (18-24 min). La velocidad de flujo fue de 0,4 mL/min y el volumen de inyección de 2 µL. La detección UV se realizó a 200, 250, 280 y 330 nm, y los espectros UV-Visible se registraron en el rango 200-600 nm.

Como sistema de detección de masas se empleó un espectrómetro de masas de trampa lineal de iones LTQ XL (Thermo Scientific, Waltham, Estados Unidos) equipado con una fuente de

ionización por electronebulización, que fue operada en modo ion negativo y positivo. Los espectros de masas fueron adquiridos en el rango m/z 100-1000. Para los espectros MS^2 se empleó la disociación por colisión inducida a una energía de 35 (unidades arbitrarias). Se empleó nitrógeno como gas principal, auxiliar y de barrido.

7.5. Cuantificación de compuestos bioactivos

7.5.1. Betaglucanos

Para extracción de betaglucanos se selecciona el cuerpo fructífero del hongo, puesto que la bibliografía indica una mayor presencia de este compuesto a diferencia de las otras partes del hongo.

7.5.1.1. Método físico (Ultrasonificación - calor)

Se pesaron 25 gramos de hongo liofilizado en polvo y se lo colocó en un matraz de Erlenmeyer de 1L, adicionando 125 mL de agua destilada a 60°C y con una varilla se mezcla la muestra. Luego, la muestra pasa por un baño ultrasónico ULTRASONIC BATH 5.7 L (Fischer Scientific, Ciudad de México, México), a una intensidad de 40 kHz durante 20 minutos, considerando una temperatura de 80°C en el agua del baño maría y 60°C en la muestra. Más tarde, la muestra pasó por cocción a 90°C durante 90 minutos para tener una mayor liberación de los betaglucanos en el líquido.

La muestra fue filtrada con un lienzo para separar la parte no sólida de la parte soluble. El líquido obtenido se vuelve a filtrar por un papel filtro PL58X58 Liso MN713 y se coloca en un matraz de Erlenmeyer de 500 mL, adicionando de 2 a 3 volúmenes de alcohol con base en lo obtenido; , se colocó en refrigeración por 24 horas, con el fin de facilitar la precipitación de los betaglucanos. El precipitado se separa de la fase líquida por decantación, colocándolo en cajas Petri esterilizadas y pesadas, para luego secar en una estufa VN6400 (Mettler, Schwaben, Alemania) a 60 °C hasta obtener un peso constante. Con ello se obtiene el porcentaje de betaglucanos extraídos en peso seco.

7.5.2. Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales por método de Folin - Ciocalteu

En la cuantificación de compuestos fenólicos se aplica la metodología dada por Ayala-Zavala et al., (2012) y Zapata et al.,(2013).

Preparación de la muestra :

Se utiliza 1 g de hongo liofilizado disuelto en 100 mL de agua desionizada colocados en un matraz Erlenmeyer de 250 mL para aplicar agitación en una plancha a 200 rpm durante 10 minutos. Este extracto se usó para la determinación de compuestos fenólicos. En el caso de la pasta de cacao se aplica una dilución de 1 g de pasta en 100 mL de agua desionizada.

Preparación de reactivos:

Solución de Folin - Ciocalteu 1N: 1 mL de reactivo Folin - Ciocalteu 1N es diluido en 1 mL de agua destilada.

Solución de carbonato de sodio (20%): se pesan 20 g de Na₂CO₃ anhidro y se lo diluye en 100 mL de agua destilada.

Ensayo: En un tubo de ensayo de 20 mL, se coloca 50 µL de la muestra con 3 mL de agua y 250 µL de reactivo Folin - Ciocalteu 1N, dejándolo reposar por 8 minutos. Luego, se añade 750 µL de Na₂CO₃ al 20% con 950 µL de agua por 30 minutos en reposo a 26°C. La solución obtenida se procede a leer en el espectrofotómetro UV/VIS T70+ UV/VIS Spectrometer (PG Instruments Ltd, Leicester, Reino Unido) a una longitud de onda de 765 nm.

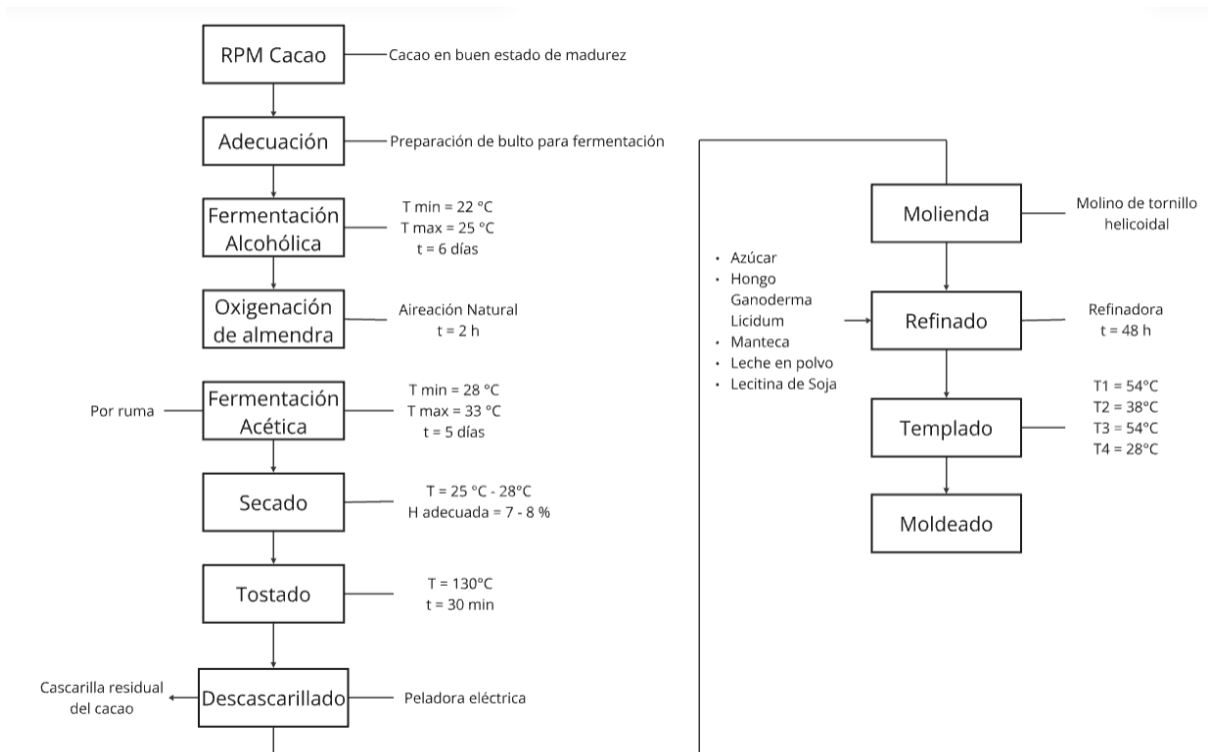
2.6. Elaboración de la barra de chocolate

Para la elaboración de una barra de chocolate se parte de una formulación estándar que se detalla en la tabla 8 y se siguió el proceso que se observa en la figura.

Tabla 8. Formulación de la barra de chocolate

Ingrediente	%
Panela	37,46
Licor de cacao	35,79
Leche en polvo	14,15
Manteca	10
Extracto de hongo	2,35
Lecitina	0,38

Ilustración 5. Diagrama de flujo del chocolate en barra



Recepción de materia prima del cacao: Se receipta el cacao y se verifica que esté en buen estado sin golpes ni daños que puedan afectar al producto final.

Adecuación: Se adecuó el cacao para la preparación del bulto necesario en la fermentación

Fermentación alcohólica: En esta fase se aplicó el método en saco por 6 días en un rango de temperatura mínima de 22°C y una temperatura máxima de 25°C.

Oxigenación de la almendra: la almendra fue aireada de forma natural dos veces por día.

Fermentación Acética: En esta fase se aplicó el método de ruma durante 5 días con una temperatura mínima de 28°C y una temperatura máxima de 33°C.

Secado: Se secó la almendra a una temperatura entre 25°C a 28°C hasta alcanzar una humedad del 7 % durante 6 días.

Tostado: La almendra de cacao fue tostada en un horno (Ecuahorno, Quito, Ecuador) hasta alcanzar una temperatura de 130°C por 30 minutos

Descascarillado: Se descascarilla la almendra en una peladora electrónica (Camso, Imbabura, Ecuador).

Molienda: Los nibs de cacao obtenidos de la descascarilladora fueron pasados por un de molino de tornillo helicoidal L14200 (Corona, Medellín, Colombia) con la finalidad de reducir el tamaño de partícula

Refinado: La pasta de cacao se refinó por 48 horas en una refinadora DCM 20 (Melanger, Chicago, EE.UU); luego de transcurrir ese tiempo se agregó los otros ingredientes: azúcar, extracto microencapsulado del hongo *Ganoderma lucidum*, manteca de cacao, leche en polvo y lecitina de soja.

Templado: Siguiendo la metodología de León & Salas (2020) el templado o atemperado se inicia elevando la temperatura de la masa del chocolate a 54°C, para luego bajar su temperatura a 38°C. Se vuelve a subir la temperatura a 54 °C, y se finaliza bajando a 28°C. El objetivo del proceso aplicado es obtener una red estable de grasa mediante la alineación de los cristales de la manteca de cacao y a su vez eliminar aquellos cristales inestables de las nuevas redes.

Moldeado: El chocolate templado en moldes previamente esterilizados y secados.

2.7. Evaluación sensorial

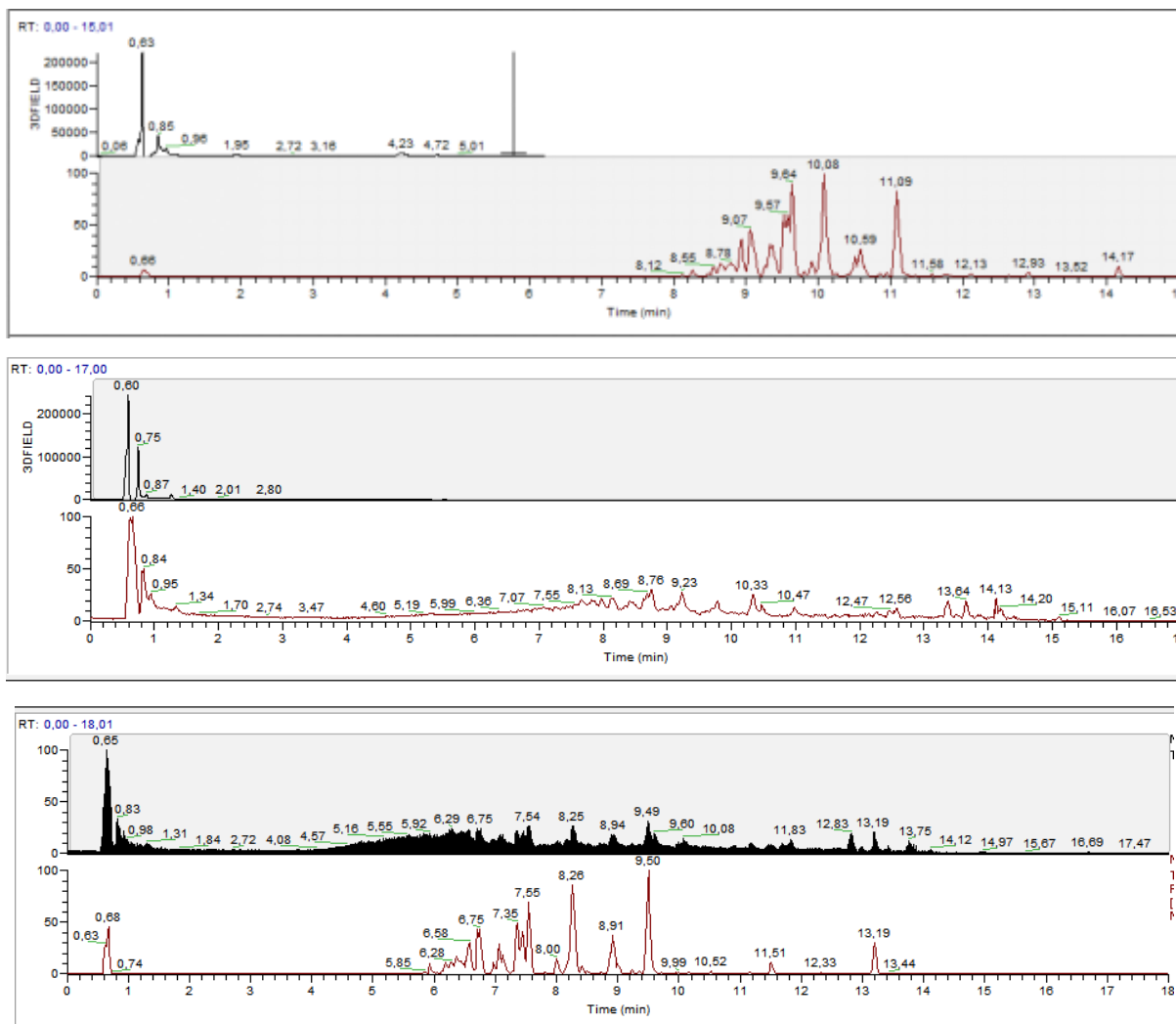
La evaluación sensorial se realizó en el laboratorio de bioconversión, con un panel semientrenado de 32 personas de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala. Para este análisis sensorial se usó una escala hedónica que consiste en una valoración de 1 a 5 puntos, con el propósito de conocer el grado de aceptación por parte de los catadores para su respectiva aplicación de un diseño de bloques y su correspondiente de un ANOVA que permite establecer la diferencia significativa entre las muestras.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Análisis cualitativo de *Ganoderma Lucidum*

Los resultados de la cromatografía de líquidos de alta resolución (High-Performance Liquid Chromatography - HPLC) se presentan en la Figura 7 que muestran los cromatogramas obtenidos a partir de la metodología aplicada. Por otro lado la Tabla 10, presenta las masas pseudomoleculares, las cuales son comparadas y analizadas con bibliografía para obtener los posibles compuestos bioactivos presentes en el hongo.

Ilustración 6. Cromatogramas del hongo Ganoderma Lucidum



Los cromatogramas muestran los picos identificados por el detector de masas y el arreglo de diodos en los tiempos de retención respectivos para cada equipo. El software permite conocer los compuestos presentes en el hongo de estudio mediante las masas pseudomoleculares y los fragmentos principales obtenidos al realizar una ruptura de los compuestos primordiales, los cuales pueden ser positivos o negativos, basándose en la ganancia o pérdida de una molécula de agua, alcohol, cetonas, entre otros. El primer cromatograma abarca los posibles compuestos del grupo de esteroides, mientras que la segunda imagen los compuestos triterpenos y el último muestra los compuestos fenólicos.

Tabla 9. Posibles compuestos presentes en extracto de *Ganoderma Lucidum*

Tipo de compuesto	Posible compuesto	Ión pseudomolecular (m/z)	Masa molecular (g/ mol)	Referencias
-------------------	-------------------	---------------------------	-------------------------	-------------

Triterpeno	Ácido Ganoderico A	515-	516,68	Chen et al., (2020)
	Ácido Ganoderico B	487-	488,63	Zhao et al., (2019)
	Ácido Ganoderico C2	471-	472,62	
	Ácido Lucidenico A	483-	484,66	
	Ácido Ganoderico DM	599-	600,87	
	Ácido Ganoderico S	583-	584,86	
	Ácido Ganoderico T	567-	568,82	
Esteroles	Ergosterol	397+ 395-	396,65	Yu et al., (2022)
	Ergosterol peróxido	429+ 427-	428,65	Lin et al., (2016)
	Lanosterol	427+ 425-	426,72	
	B-sitosterol	415+ 413-	414,71	
	Estigmasterol	413+ 411-	412,69	
	Campesterol	401+ 399-	400,68	
Compuestos fenólicos	Ácido gálico	171+ 169-	170,12	Xu et al., (2018)
	Ácido protocatecuico	155+ 153-	154,12	Zhang et al., (2021)

Ácido clorogénico	355+ 353-	354,31	Smith et al., (2019)
Ácido cafeico	181+ 179-	180,16	

En la tabla 10 se observan los posibles compuestos bioactivos presentes en el hongo de estudio, sobresaliendo los triterpenos tales como ácidos ganodéricos y lucidénicos, esteroides especialmente ergosterol, lanosterol, campesterol, entre otros y compuestos fenólicos como ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido clorogénico y ácido cafeico.

8.2. Análisis cuantitativo de *Ganoderma Lucidum* y pasta de cacao

En base a la metodología aplicada para cada compuesto se presenta la Tabla 10 que contiene los resultados de la cuantificación de β -glucanos y compuestos fenólicos en el hongo, en conjunto con el análisis cuantitativo de los compuestos fenólicos en la pasta de cacao.

Tabla 10. Análisis cuantitativo de los compuestos bioactivos

Compuesto extraído	Porcentaje del compuesto extraído (%)	mg	Porcentaje de ingrediente	Cantidad presente del compuesto en 100 g
β -glucanos (hongo)	16,60	—	2,35% de extracto de hongo microencapsulado	0,39 g de Betaglucanos
Compuestos fenólicos (hongo)	1,25	12573 mg GAE/g	2,35% de extracto de hongo microencapsulado	0,029 g de fenoles
Compuestos fenólicos (pasta de cacao)	1,1	10950 mg GAE/g	35,79% de pasta de cacao	0,3936 g de fenoles

Con base en la tabla anterior, el contenido de β -glucanos en el hongo es del 16,60%, el cual al ser comparado con los resultados reportados por otros autores como Boonyanuphap & Hansawasdi (2010), concluyeron que el hongo *Ganoderma lucidum* recolectado de un bosque subtropical de Tailandia puede llegar a tener una concentración de β -glucanos desde 10- 30% aproximadamente. De acuerdo con los datos obtenidos en la investigación se determina que, los resultados en cuanto a la concentración de β -glucanos están dentro de los rangos obtenidos en otras investigaciones.

Por otra parte, en la cuantificación de polifenoles, la investigación de Mueses & Benavides (2022) obtuvieron un contenido de polifenoles totales en los extractos acuosos de $32,44 \pm 0,7023$ mg EAG/g; estos resultados fueron mayores a los reportado por Rašeta et al. (2016) en donde el contenido de polifenoles totales en extractos acuosos del cuerpo fructífero de *G.lucidum* fue de $11,38 \pm 0,67$ mg GAE/g. Los valores reportados por otros investigadores son, con base en extractos acuosos, mientras que en este trabajo de investigación fue con base en un extracto puro liofilizado obteniéndose 12573 mg GAE/g.

La cuantificación de polifenoles en cacao Nacional fue de 10950 mg GAE/g, siendo mayores al compararlo con la investigación realizada por Carrillo & Malla (2024) quienes obtuvieron 49,85 mg/L, siendo similares a los reportado por Rivera et al. (2012) el cual obtuvo 38,36 mg/L en cacao Nacional.

8.3. Barra de chocolate

8.3.1. Formulación de la barra

A partir de una formulación estándar en donde se adiciona el 2,35% de extracto microencapsulado de *Ganoderma Lucidum*, se tiene que, por cada 100 g de barra de chocolate hay 390 mg de β -glucanos y 422,6 mg de compuestos fenólicos totales; estos resultados se calculan considerando que el extracto microencapsulado tiene 16,60% de β -glucanos y 1,2% de compuestos fenólicos, mientras que la pasta de cacao tiene 1,1% de fenoles, los cuales se encuentran en la Tabla 11.

Por otro lado, la Ingesta Diaria Recomendada (IDR) para betaglucanos es de 7,3 - 16,4 mg/ kg peso corporal/ día en adultos, mientras que en niños menores de 2 años es de 16,6 mg/ kg peso corporal/día. En el caso de los compuestos fenólicos, Huertas et al, (2022) la IDR es de 50 - 800 mg, mientras que Valencia et al., (2017) sugieren hasta 1 g al día.

8.3.2. Evaluación sensorial de la barra de chocolate

Los resultados de la evaluación sensorial fueron analizados en el programa MiniTab 18, aplicando un ANOVA de modelo lineal general a las respuestas dadas por los catadores para cada atributo, en donde la muestra 001 representa a la barra de chocolate con extracto de hongo y la muestra patrón está codificada como 002. A continuación se presentan los resultados del análisis estadístico obtenido en el programa, lo que permite identificar si existe diferencia significativa entre la muestra testigo y la muestra de estudio.

Tabla 11. Análisis de varianza del atributo color

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
MUESTRA	1	0,00000	0,000000	0,00	1,000
PANELISTA	31	6,00000	0,193548	6,00	0,000
Error	31	1,00000	0,032258		
Total	63	7,00000			

Con base en el valor de significancia, no existe diferencia significativa en el color de la muestra con hongo y la sin hongo, pero sí existe influencia representativa del atributo en los panelistas, debido a que presenta un valor p de $0,000 < 0,05$.

Tabla 12. Análisis de varianza del atributo olor

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
MUESTRA	1	4,000	4,0000	6,53	0,016
PANELISTA	31	20,438	0,6593	1,08	0,420
Error	31	19,000	0,6129		

Total	63	43,438
-------	----	--------

El análisis de varianza refleja que existe diferencia significativa en el olor (valor p $0,016 < 0,05$), mientras que este atributo no influye en la apreciación de los panelista al no presentar diferencia significativa (valor p $0,420 > 0,05$).

Tabla 13. Análisis de varianza del atributo sabor

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
MUESTRA	1	0,0625	0,06250	0,07	0,786
PANELISTA	31	11,4375	0,36895	0,44	0,987
Error	31	25,9375	0,83669		
Total	63	37,4375			

En cuanto al sabor, el chocolate con hongo y la muestra patrón según el análisis estadístico no presentan diferencia significativa al igual que los panelistas, puesto que ambos tienen un valor $p > 0,05$.

Tabla 14. Análisis de varianza del atributo cohesividad

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
MUESTRA	1	0,5625	0,5625	1,85	0,184
PANELISTA	31	28,4375	0,9173	3,01	0,001
Error	31	9,4375	0,3044		
Total	63	38,4375			

El análisis estadístico del atributo cohesividad muestra que no hay diferencia representativa entre las muestras de estudio es decir, tanto en la barra de chocolate con hongo como en la barra de chocolate patrón presentan cohesividad aceptable, mientras que los panelistas presentan diferencias en la apreciación de este atributo.

Tabla 15. Análisis de varianza del atributo textura en la boca

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
MUESTRA	1	0,0156	0,01563	0,03	0,856
PANELISTA	31	27,3594	0,88256	1,89	0,041
Error	31	14,4844	0,46724		
Total	63	41,8594			

La textura en la boca de ambas muestras no presenta diferencias significativas entre ellas (valor $p = 0,856 > 0,05$), es decir en este atributo tanto la muestra de chocolate con extracto liofilizado de *Ganoderma Lucidum* como la muestra testigo tienen una similitud en su apreciación, pero los panelistas presentan una diferencia en las respuestas dadas.

El análisis estadístico realizado a la evaluación sensorial que se presenta en las tablas anteriores, demuestra que solo hay diferencia significativa ($p < 0,05$) en el atributo olor, mientras que los demás atributos no presentan diferencia significativa. Con lo cual se acepta la H_0 , la cual establece que, no existe diferencia significativa ($p > 0,05$) en la calidad organoléptica de una barra de chocolate adicionada de extracto liofilizado de *Ganoderma Lucidum*.

9. CONCLUSIONES

El análisis cualitativo realizado por el método de cromatografía de líquidos de alta resolución (High Performance Liquid Chromatography - HPLC) demuestra la presencia de compuestos bioactivos afines al alcohol como triterpenos, esteroides, compuestos fenólicos y otros metabolitos secundarios, a excepción de β -glucanos. Este análisis confirma la presencia de los compuestos reportados por otras investigaciones.

Con relación a la cuantificación de β -glucanos y compuestos fenólicos, el método ultrasonido - cocción permite obtener una extracción de 16,6% de β -glucanos, resultado que se encuentra dentro de los rangos reportados por otros autores. Los compuestos fenólicos fueron cuantificados por la metodología Follin Cialcateu, obteniendo 12573 mg GAE/g.

Se obtuvo una barra de chocolate en barra con un peso de 100 g presenta valores de β -glucanos y compuestos fenólicos que se encuentran dentro de los rangos de la Ingesta Diaria Recomendada (IDR) por día según lo reportado por organizaciones internacionales e investigaciones actuales. A nivel sensorial, la barra de chocolate tiene aceptación en los

atributos color, sabor, cohesividad y textura en la boca, mientras que el olor presenta diferencia significativa con la muestra patrón; sin embargo, los resultados del análisis estadístico permiten la aceptación de la H0 y la afirmación de que no existe diferencias significativas entre el chocolate en barra adicionada de extracto liofilizado de *Ganoderma Lucidum* con el chocolate sin extracto de hongo.

10. RECOMENDACIONES

- Realizar más estudios para validar el método que se aplicó en la cuantificación de β -glucanos.
- Hacer más estudios en los otros compuestos bioactivos: triterpenos y esteroides.
- Formulación de otros alimentos con extractos de *Ganoderma Lucidum*.
- Hacer un estudio in vivo a un grupo de personas con el fin de incorporar a su dieta el consumo diario de la barra con hongo *Ganoderma Lucidum*, por un lapso de tiempo con el fin de evaluar los beneficios que detallan las investigaciones.
- Aplicar otras metodologías de cuantificación a través del uso de equipos más precisos como un HPLC que tenga los estándares de los compuestos a cuantificar.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abad, A., Acuña, C., & Naranjo, E. (2020). El cacao en la Costa ecuatoriana : estudio de su dimensión cultural y económica. 7(7), 59–83.
<https://doi.org/https://doi.org/10.32719/25506641.2020.7.3>
- Afoakwa, E. O. (2016). Cocoa bean composition and chocolate flavour development. *Chocolate Science and Technology*, 80–101.
[https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=rZstCwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR19&dq=Afoakwa,+E.+O.+\(2016\).+Cocoa+bean+composition+and+chocolate+flavour+deve](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=rZstCwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR19&dq=Afoakwa,+E.+O.+(2016).+Cocoa+bean+composition+and+chocolate+flavour+deve)

lopment.+Chocolate+Science+and+Technology,+80%E2%80%93101.+&ots=VJTxPP
EBRU&sig=YKc67G1oWJU8_gbz1N2lwZsA6Ts#v=onpage&q&f=false

Ahmad, F. (2020). Ganoderma lucidum: A rational pharmacological approach to surmount cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 260. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113047>

Alean, J., Chejne, F., & Rojano, B. (2016). Degradation of polyphenols during the cocoa drying process. *Journal of Food Engineering*, 189, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.026>

Arvelo, M. A., Delgado, T., Maroto, S., Rivera, J., Higuera, I., & Navarro, A. (2016). Estado actual sobre la producción y el comercio del cacao en América. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) / Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C (CIATEJ) , San José - Costa Rica . <https://repositorio.iica.int/handle/11324/21191>

AMADOR, D. E. P., CRUZ, N. V., VÁSQUEZ, G. A., RAMOS, F. M., & ROMERO, J. R. G. (2020). FORMULACIÓN DE UNA BARRA DE CHOCOLATE ENRIQUECIDA CON PULPA DE CAFÉ. *Innovación en Biotecnología II*, 47. <https://redibai-myd.org/portal/wp-content/uploads/2021/01/607-8617-86-9.pdf#page=54>

Ayala, N., Portillo, A., Villarreal L., Rico, R. y Soria, I. (2016). Los hongos como fuente de recursos farmacológicos: Ganoderma lucidum; Grifola frondosa; y Pleurotus ostreatus. *Temas de ciencia y tecnología*, 58(20), 25-36 <http://repositorio.utm.mx:8080/jspui/handle/123456789/337>

Bao, C., Yan, M., Diao, M., Anastasiia, U., Zhang, X. y Zhang, T. (2025). Efecto del extracto acuoso de Ganoderma lucidum sobre los volátiles del sabor y las características de calidad del yogur de tipo cuajado. *Química alimentaria* , 464 , 141687. [10.1016/j.foodchem.2024.141687](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141687)

- Badrie, N., Bekele, F., Sikora, E., & Sikora, M. (2014). Cocoa Agronomy, Quality, Nutritional, and Health Aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(5), 620–659. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.669428>
- Bhakta, M., & Kumar, P. (2013). Mushroom polysaccharides as a potential prebiotics. *Int. J. Health Sci. Res*, 3(8), 77-84. https://www.researchgate.net/profile/Prasant-Kumar-4/publication/322498606_Mushroom_Polysaccharides_as_a_Potential_Prebiotics/links/5a5c33d7aca2727d608a2dec/Mushroom-Polysaccharides-as-a-Potential-Prebiotics.pdf
- Bhattacharjee, R. (2018). Taxonomy and classification of cacao. August, 3–18. https://www.researchgate.net/publication/326914767_Taxonomy_and_classification_of_cacao
- Beckett, S. T., Fowler, M. S., & Ziegler, G. R. (Eds.). (2017). *Beckett's industrial chocolate manufacture and use*. John Wiley & Sons. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=xYe5oTopUTAC&oi=fnd&pg=PP16&dq=Beckett,+S.+T.,+Fowler,+M.+S.,+%26+Ziegler,+G.+R.+\(Eds.\).+\(2017\).+Beckett%27s+industrial+chocolate+manufacture+and+use.+John+Wiley+%26+Sons.+&ots=WRH7tXOW7i&sig=WrcPx7CyboIcIW2_EJAY9huZ-So#v=onepage&q&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=xYe5oTopUTAC&oi=fnd&pg=PP16&dq=Beckett,+S.+T.,+Fowler,+M.+S.,+%26+Ziegler,+G.+R.+(Eds.).+(2017).+Beckett%27s+industrial+chocolate+manufacture+and+use.+John+Wiley+%26+Sons.+&ots=WRH7tXOW7i&sig=WrcPx7CyboIcIW2_EJAY9huZ-So#v=onepage&q&f=false)
- Biblioteca Nacional de Medicina Medlineplus (2022). Hcaongo reishi. <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/natural/905.html>
- Bidegain, M. A. (2017). Optimización del cultivo de *Ganoderma lucidum*: evaluación de actividad y desarrollo de nutraceuticos. <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/3786>
- Boh B, Berovic M, Zhang J, Zhi-Bin L (2007) *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds. *Biotechnol Annu Rev* 13:265–301. [https://doi.org/10.1016/S1387-2656\(07\)13010-6](https://doi.org/10.1016/S1387-2656(07)13010-6)

- Boonyanuphap, Jaruntorn & Hansawasdi, Chanida. (2010). Spatial distribution of Beta glucan containing wild mushroom communities in subtropical dry forest, Thailand. *Fungal Diversity*. 46. 29-42. 10.1007/s13225-010-0067-8
- Boza, E. J., Motamayor, J. C., Amores, F. M., Cedeño-Amador, S., Tondo, C. L., Livingstone, D. S., Schnell, R. J., & Gutiérrez, O. A. (2014). Genetic characterization of the cacao cultivar CCN 51: Its impact and significance on global cacao improvement and production. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139(2), 219–229. <https://doi.org/10.21273/jashs.139.2.219>
- Burbano Cachiguango, A. (2020). Evaluación de un sistema semiautomatizado para la fermentación de *Theobroma cacao* L.(Nacional y Súper árbol) en la Amazonía Norte Ecuatoriana. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5843>
- Cadar, E., Negreanu-Pirjol, T., Pascale, C., Sirbu, R., Prasacu, I., Negreanu-Pirjol, B. -S., Tomescu, C. L., & Ionescu, A. -M. (2023). Natural Bio-Compounds from *Ganoderma lucidum* and Their Beneficial Biological Actions for Anticancer Application: A Review. *Antioxidants*, 12(11), 1907. <https://doi.org/10.3390/antiox12111907>
- Camarena Rosales, E. M. (2022). Evaluación de la producción del hongo *Ganoderma lucidum* (Reishii) Sobre tres residuos vegetales-Satipo. <http://hdl.handle.net/20.500.12894/9100>
- Cano, A.yRomero, L. (2016).Valor económico, nutricional y medicinal de hongos comestibles silvestres. *Revista Chilena de Nutrición*, 43(1), 75-80.<https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000100011>
- Carrillo Romero D. M.; Malla Illescas J. A. (2024) Caracterización bromatológica y sensorial del licor de cacao de tres variedades tras el proceso de fermentación alcohólica-acética con *saccharomyces cerevisiae* (trabajo de titulación). UTMACH, Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, Machala, Ecuador. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/23474>

- Crafack, M., Keul, H., Eskildsen, C. E., Petersen, M. A., Saerens, S., Blennow, A., Skovmand-Larsen, M., Swiegers, J. H., Petersen, G. B., Heimdal, H., & Nielsen, D. S. (2014). Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. *Food Research International*, 63, 306–316. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.032>
- Chan, Ch., Lin, Ch., Lu, Ch., Martel, J., Ko, Y., Ojcius, D., Tseng, S., Wu, T., Chen, Y., Young, J., & Lai, H. (2015). *Ganoderma lucidum* reduces obesity in mice by modulating the composition of the gut microbiota. *Nature communications*, 6(7489), 1-17. <https://doi.org/10.1038/ncomms8489>
- Chetschik, I., Kneubühl, M., Chatelain, K., Schlüter, A., Bernath, K., & Hühn, T. (2017). Investigations on the Aroma of Cocoa Pulp (*Theobroma cacao* L.) and Its Influence on the Odor of Fermented Cocoa Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(10), 2467–2472. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05008>
- Chithra, E., Padmanaban, A., & Mohan, K. (2016). Potential use of *Ganoderma lucidum* polysaccharides as a feed supplement in diets on survival and growth performance of the grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Int. J. Fish. Aquac. Stud*, 4, 328-333. <https://www.fisheriesjournal.com/archives/2016/vol4issue5/PartE/4-5-5-787.pdf>
- Costa, J., Marques, L., Carvalho, M. y Novaes, G. (2012). Cogumelos comestíveis: uso, conservação, características nutricionais e farmacológicas. *Revista HCPA*, 23(3), 452-460. <https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/29231>
- Deepalakshmi, K., & Mirunalini, S. (2011). Therapeutic properties and current medical usage of medicinal mushroom: *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(8), 1922. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=4e49fb1bf7cd811b1c328fede92315c6eae8dd69>

- Delgado Maldonado , S. A. ., y Ortiz Tobar, D. P. (2023). Estado del arte de las propiedades nutricionales y funcionales de Ganoderma Lucidum. *Revista Mutis*, 13(1), 1–13. <https://doi.org/10.21789/22561498.1871>
- Dzelagha, B. F., Ngwa, N. M., & Bup, D. N. (2020). A review of cocoa drying technologies and the effect on bean quality parameters. *International Journal of Food Science*, 2020, 2–11. <https://doi.org/10.1155/2020/8830127>
- De Vuyst, L., & Leroy, F. (2020). Functional role of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in cocoa fermentation processes. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(4), 432–453. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa014>
- De Vuyst, L., & Weckx, S. (2016). The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *Journal of Applied Microbiology*, 121(1), 5–17. <https://doi.org/10.1111/jam.13045>
- Fernández, P., Haza, A.yMorales, P. (2020). Propiedades funcionales de hongos comestibles. *Agro Sur*, 48(1), 11-24. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2020.v48n1-02>
- Fowler, M. S. (2008). Cocoa Beans: From Tree to Factory. In *Industrial Chocolate Manufacture and Use: Fourth Edition*. <https://doi.org/10.1002/9781444301588.ch2>
- Ganeswari, I., Khairul Bariah, S., Amizi, M. A., & Sim, K. Y. (2015). Effects of different fermentation approaches on the microbiological and physicochemical changes during cocoa bean fermentation. *International Food Research Journal*, 22(1), 70–76. [http://www.ifrj.upm.edu.my/22%20\(01\)%202015/\(11\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/22%20(01)%202015/(11).pdf)
- Garza Sánchez, P. F. (2018). Propiedades funcionales de Ganoderma lucidum agregadas a las pastas (fideo, lasaña y macarrón) de amplio consumo en las comunidades de México (Master's thesis). <http://hdl.handle.net/10521/3082>
- Garuba, T., Olan, G., Lateef, A., Alaya, R., Awolowo, M.ySolyman, A. (2020). Proximate Composition and Chemical Profiles of Reishi Mushroom (Ganoderma

- lucidum (Curt: Fr.) Karst). *Journal Of Scientific Research*, 12(1), 103-110. <https://doi.org/10.3329/jsr.v12i1.42059>
- Hamdouche, Y., Meile, J. C., Lebrun, M., Guehi, T., Boulanger, R., Teyssier, C., & Montet, D. (2019). Impact of turning, pod storage and fermentation time on microbial ecology and volatile composition of cocoa beans. *Food Research International*, 119(March 2018), 477–491. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.001>
- Hernández, C., López, P., Ramírez, M., Ramírez, D., & Caballero, J. . (2016). Evaluation of different fermentation processes for use by small cocoa growers in Mexico. January. <https://doi.org/10.1002/fsn3.333>
- Jandaik, S., & Gupta, S. K. (2022). Cultivation Technology of the Fungus *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. In *Biology, Cultivation and Applications of Mushrooms* (pp. 597-609). Singapore: Springer Singapore. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-16-6257-7_23
- Kadow, D. (2020). The biochemistry of cocoa flavor – A holistic analysis of its development along the processing chain. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 93, 300–312. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2020.093.037>
- Kulshreshtha, M., Khare, P., & Goyal, A. (2013). Medicinal and therapeutic potential of *Ganoderma lucidum* in foods. *Functional Foods in Health and Disease*, 3(10), 344-359. Disponible en <https://www.functionalfoodscenter.net>
- Lagla, W. D. J. (2015). Diseño de una planta de elaboración de chocolate negro y chocolate con leche a partir de licor de cacao Lee, H., Cho, J., Afinanisa, Q., An G., Han, J., Kang, H., Choi, S. y Seong, H. (2020). *Ganoderma lucidum* Extract Reduces Insulin Resistance by Enhancing AMPK Activation in High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*, 12(11), 2-21. <https://doi.org/10.3390/nu12113338>

- Lee, I., Ahn, B., Choi, J., Hattori, M., Min, B.yBae, K. (2011). Selective cholin-esterase inhibition by lanostane triterpenes from fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(21), 6603-6607. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.04.042>
- León, Á., & Salas, R. (2020). Análisis comparativo del consumo de chocolate artesanal vs chocolate industrializado (trabajo de titulación). Universidad de Guayaquil . <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/52140>
- Lieberei, R., Kadow, D., & Seigler, D. (2013). Cocoa Cultivation, Directed Breeding and Polyphenolics (K. Ramawat & J. Mérillon (eds.)). Springer, Berlín, Heidelberg. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_51
- Lin, Z., & Deng, A. (2019). Antioxidative and free radical scavenging activity of *Ganoderma* (Lingzhi). *Ganoderma and health: Pharmacology and clinical application*, 271-297. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-32-9421-9_12
- Liu, H. -M., Cheng, J., Wang, X. -Y., Jiang, Y., Ni, J., Zhang, Y., Wang, W. (2024). Structure Identification of *Ganoderma lucidum* Spore Polysaccharides and Their Antitumor Activity In Vivo. *Molecules*, 29(10), 2348. <https://doi.org/10.3390/molecules29102348>
- Li Wang., Jie-qing Li., Ji Zhang., Zhi-min Li., Hong-gao Liu., Yuan-zhong Wang . (2020). Traditional uses, chemical components, and pharmacological activities of the genus *Ganoderma* P. Karst.: A review. *RSC Advances*, 10(85), 42084–42100. <https://doi.org/10.1039/D0RA08533A>
- Loja Atariguana, R. V., & Montesdeoca Loja, V. J. (2022). Determinación del efecto en diferentes niveles de fermentación del cacao nacional, para la optimización del proceso de elaboración del chocolate. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/19674>
- Lopez, A. S., & Dimick, P. S. (1995). Cocoa Fermentation. *Biotechnology*, 561–577.

- Ludisaca, A. (2017). Diseño de un proceso industrial para la elaboración de cerveza artesanal a base de cebada (*Hordeum Vulgare*) y cacao de fino aroma (*Theobroma Cacao*) [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/6593>
- Maldonado, S. A. D., & Tobar, D. P. O. (2023). Estado del arte de las propiedades nutricionales y funcionales de *Ganoderma Lucidum*. *Revista Mutis*, 13(1), 1-13.
- Mafla, R. B. M., & Calvache, O. L. B. (2024). Evaluación sensorial de café de Nariño (Colombia) enriquecido con biomasa micelial de *Ganoderma lucidum*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 22(1), 53-69.
- Mingliang, J., Hao Z., Jiaojiao, W., Dongyan, S., Hui, Y., Qingsheng, H., Junling, S. y Chunlan, X., Ke, Z. (2019). Response of intestinal metabolome to polysaccharides from mycelia of *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122(1), 723-731. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.224>
- Mitzi Dávila, V., & MITZI DAVILA, V. L. A. D. I. M. I. R. (2015). *Desarrollo de un suplemento alimenticio a base de hongo medicinal Ganoderma lucidum y semillas de amaranto: su impacto potencial en la región central de México* (Master's thesis). <http://hdl.handle.net/10521/2847>
- Mishra, J., Rajput, R., Singh, K., Puri, S., Goyal, M., Bansal, A., & Misra, K. (2018). Antibacterial natural peptide fractions from Indian *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 24, 543-554.
- Melo, C., Sales, C., Pessoa, L., Almeida, M., Merthan, L., Alquiati, G. y Nogueira, M. (2015). Cultivation and bromatological analysis of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst cultivated in agricultural waste. *Afr. J. Biotechnol*, 14(5), 412-418. <https://doi.org/10.5897/AJB2014.14022>

- Montes Mosquera, M. A. (2016). *Efectos del fosforo y azufre sobre el rendimiento de mazorcas, en una plantación de cacao (Theobroma cacao L.) ccn-51, en la zona de Babahoyo* (Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB, 2016). <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/3358>
- Morales, O., Borda, A., Argandoña, A., Farach, R., García, N., & Lazo, K. (2015). La Alianza Cacao Perú y la cadena productiva del cacao fino de aroma (ESAN, Vol. 1999, Issue December). <https://repositorio.esan.edu.pe/server/api/core/bitstreams/c0492cc8-10c9-41b8-86ac-6491c62016fa/content>
- Mueses-Mafla, R. B., & BENAVIDES-CALVACHE, O. L. (2022). Polifenoles totales de *Ganoderma lucidum* cultivado en residuos de *Pandala talaumanariñensis* y Avena sativa. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 20(1), 18-26. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v20.n1.2022.1491>
- Mohan, K., Padmanaban, A. M., Uthayakumar, V., Chandirasekar, R., Muralisankar, T., & Santhanam, P. (2016). Effect of dietary *Ganoderma lucidum* polysaccharides on biological and physiological responses of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 464, 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.046>
- Musa, N. A. (2012). Drying characteristics of cocoa beans using an artificial dryer. *Journal of Engineering and Applied Sciences*, 7(2), 194–197. https://www.researchgate.net/publication/276042842_Drying_Characteristics_of_Cocoa_Beans_Using_an_Artificial_Dryer
- Nasreen, Z., Kausar, T., Nadeem, M., & Bajwa, R. (2005). Study of different growth parameters in *ganoderma lucidum*. *Micología Aplicada International*, 17(1), 5-8. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=68517102>

- Oludemi, T., Barros, L., Prieto, M. A., Heleno, S. A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2018). Extraction of triterpenoids and phenolic compounds from *Ganoderma lucidum*: optimization study using the response surface methodology. *Food & function*, 9(1), 209-226. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/fo/c7fo01601h>
- Paredes León, C. E. (2019). *Investigaciones actuales y aplicaciones en la agroindustria del hongo Ganoderma lucidum*. Universidad Nacional de Trujillo. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/56652>
- Paredes, N., Monteros Altamirano, A., Lima, L., Caicedo, C., Bastidas, S., Tinoco, L., Fernández, F., Vargas, Y., Pico, J., Subía, C., Burbano, A., Chanaluiza, A., Sotomayor, D., Díaz, A., Intriago, J., Chancosa, C., Andrade, A., & Enríquez, G. (2022). Manual del cultivo de cacao sostenible para la amazonía ecuatoriana (1era Ed). Manual Nro. 125. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5833>
- Perea, J. A. (2019). El cacao desde la ciencia: de la semilla al chocolate. In Portal de Publicaciones UIS. <https://ediciones.uis.edu.co/index.php/publicacionesuis/catalog/book/377>
- RAMÍREZ-AYALA, WILDER; GUEVARA-BRAVO, CARLOS-ALBERTO; RODRÍGUEZ-ESPINOSA, JHON-ALEXANDER. Ácidos ganodéricos en *Ganoderma sp*, *Ganoderma lucidum* y en su sustrato agotado. *Bioteología en el sector agropecuario y agroindustrial*, v. 19, n. 1, 2021. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(19\)206-216](https://doi.org/10.18684/bsaa(19)206-216)
- Ramírez, W., Guevara, C., Rodríguez, J. (2019). Ácidos ganodéricos en *Ganoderma sp*, *Ganoderma lucidum* y en su sustrato agotado. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 19(1), 206-216. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(19\)206-216](https://doi.org/10.18684/bsaa(19)206-216)

- Rašeta, M., Karaman, M., Jakšić, M., Šibul, F., Kebert, M., Novaković, A., & Popović, M. (2016). Mineral composition, antioxidant and cytotoxic biopotentials of wild-growing *Ganoderma* species (Serbia): *G. lucidum* (Curtis) P. Karst vs. *G. applanatum* (Pers.) Pat. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(12), 2583-2590. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13243>
- Ríos, J. (2008). *Ganoderma lucidum*, un hongo con propiedades inmunoestimulantes / *Ganoderma lucidum*, a mushroom with immunostimulant properties. *Rev. Fitoter*, 8(2), 135-146. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-132780>
- Rivera, R., Mecías, F., Guzmán, A., Peña, M., Medina, H., Casanova, L., Barrera, A., y Nivelá, P. (2012). Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional. *Ciencia y Tecnología*, 5(1), 7-12. <https://doi.org/10.18779/cyt.v5i1.120>
- Rojas S, M., Chejne, F., Ciro, H., & Montoya, J. (2020). Roasting impact on the chemical and physical structure of Criollo cocoa variety (*Theobroma cacao* L). *Journal of Food Process Engineering*, 43(6). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13400>
- Rusconi, M., & Conti, A. (2010). *Theobroma cacao* L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. 61, 5–13. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.08.008>
- Sanchez, M. C., Mestanza Ramon, C., Beatriz Vargas Tierras, Y., Armando Burbano Cachiguango, R., Santiago Calero Cardenas, A., & Andres Ramirez Romero, C. (2019). Evaluation of the Cocoa Bean (*Theobroma Cacao* L.), using Two Fermentators, Orellana and Sucumbios Provinces, Ecuador. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 08(7), 1–7. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5389>

- Sanodiya, B. S., Thakur, G. S., Baghel, R. K., Prasad, G. B. K. S., & Bisen, P. S. (2009). *Ganoderma lucidum*: a potent pharmacological macrofungus. *Current pharmaceutical biotechnology*, 10(8), 717-742. <https://doi.org/10.2174/138920109789978757>
- Santillán, M. Á. I., Ovando, A. C., Delgadillo, A. Á., Garza, R. V., Bautista, L. R., & Valencia, J. M. T. (2017). Estudio preliminar de la actividad antioxidante de tres especies del género *Ganoderma* (Polyporaceae) nativas del estado de Hidalgo, México. *Scientia Fungorum*, 46. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802017000200037&lng=es&tlng=es.
- Satitmanwiwat, S., Ratanakhanokchai, K., Laohakunjit, N., Kuoping-Chao, L., Chen, S., Pason, P., Tachaapaikoon, Ch., Lay-Kyu, K. (2012). Improved purity and immunostimulatory activity of β -(1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 6)-Glucan from *Pleurotus sajor-caju* Using Cell Wall-Degrading Enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 5423–5430. <https://doi.org/10.1021/jf300354x>
- Savoie, J. M., Minvielle, N., & Largeteau, M. L. (2008). The use of fungal additives in food. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(1), 72-79. Disponible en [ScienceDirect](#).
- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 205–221. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Suárez-Arroyo, I. J., Loperena-Alvarez, Y., Rosario-Acevedo, R., & Martínez-Montemayor, M. M. (2017). *Ganoderma* spp.: a promising adjuvant treatment for breast cancer. *Medicines*, 4(1), 15. <https://doi.org/10.3390/medicines4010015>
- Sułkowska-Ziaja, K., Balik, M., Szczepkowski, A., Tropa, M., Zengin, G., Kała, K., & Muszyńska, B. (2023). A Review of Chemical Composition and Bioactivity Studies of

- the Most Promising Species of *Ganoderma* spp. *Diversity*, 15(8), 882.
<https://doi.org/10.3390/d15080882>
- Teneda, W. F. (2016). Mejoramiento del Proceso del Cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Nacional y Variedad CCN51 (Universidad Internacional de Andalucía (ed.)).
 10.56451/10334/3743
- Tie, L. et al. (2012). *Ganoderma Lucidum* Polysaccharide Accelerates Refractory Wound Healing by Inhibition of Mitochondrial Oxidative Stress in Type 1 Diabetes. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 29(3-4), 583–594.
<https://doi.org/10.1159/000338512>
- Trelles Noche, C. D. (2018). Grasas, polifenoles totales y capacidad antioxidante (dpph y abts) en chocolates comerciales.
<https://repositorio.unas.edu.pe/server/api/core/bitstreams/4e3f776d-3ebb-4533-a0ce-5752590142dc/content>
- Urbina, M., & Pérez, L. A. C. (2020). Elaboración de una barra de chocolate con leche semidescremada deslactosada. *Revista Semilleros de Investigación*, 3(1), 1-14.
<https://doi.org/10.24054/sei.v3i1.1186>
- Valencia E, Ignacio I, Aviles E, Bartolomé M, Martínez H, García M, Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas, *Rev la Fac Ciencias Químicas*, 2017;16:15–29.
<https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/quimica/article/view/1583>
- Vázquez, A., Ovando-Medina, I., Adriano-Anaya, L., Betancur-Ancona, D., & Salvador Figueroa, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 65(3), 239–254.
https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222016000300010&script=sci_arttext

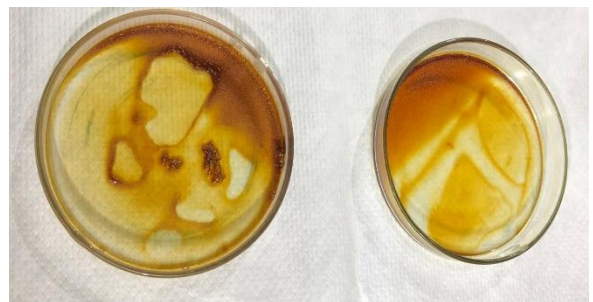
- Vega González, Ramiro Juan, Castro Salinas, Daniel, Pajuelo Risco, Fredy Marcial, Honorio Javes, César Eduardo, & Hernandez Valdez, Juan Ernesto. (2024). Subproductos de cacao (*Theobroma cacao*) en la alimentación animal: ¿Una alternativa viable y sostenible?. *Manglar*, 21(1), 127-134. Epub 02 de abril de 2024.<https://doi.org/10.57188/manglar.2024.013>
- Veljovid, S., Tomid, N., Nikidevid, N., Vukosavljevid, P., Nikšid, P.yTeševic, V. (2019). Volatile Composition, Colour, and Sensory Quality of Spirit-Based Beverages Enriched with Medicinal Fungus *Ganoderma lucidum* and Herbal Extract. *Food Technology & Biotechnology*, 57(3), 408-417.<https://doi.org/10.17113/ftb.57.03.19.6106>
- Villamil Perea, J. A., Pallares Pallares, A., Estupiñán A, M. R., & López Giraldo, L. J. (2016). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Revista ION*, 29(2), 7–21. <https://doi.org/10.18273/revion.v29n2-2016001>
- Villegas Allauca, M. C. (2018). Elaboración de una barra de chocolate endulzado con componentes de jícama (*Smallanthus sonchifolius*) para confites «El Salinerito» [Universidad Técnica de Ambato]. <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/27563>
- Wasser, S. P. (2005). Reishi or ling zhi (*Ganoderma lucidum*). *Encyclopedia of dietary supplements*, 1, 603-622. https://www.imispain.com/blog/wp-content/uploads/2010/11/7_49_IMI.pdf
- Wood, G. A. R., & Lass, R. A. (2008). *Cocoa* (J. Wiley & Sons (eds.); Blackwell)
- Xia Q, Zhang H, Sun X, Zhao H, Wu L, Zhu D, Yang G, Shao Y, Zhang X, Mao X, Zhang L, She G (2014) A Comprehensive Review of the Structure Elucidation and Biological

- Activity of Triterpenoids from *Ganoderma* spp. *Molecules* 19:17478–17535.
<https://doi.org/10.3390/molecules191117478>
- Xu, Z., Ma, Y., Hong, T., Shao, G., Lv, L., Xu, D., ... y Xu, X. (2024). Efecto del hongo chino *ganoderma lucidum* comestible fermentado en líquido sobre el pan de trigo: un mejorador de calidad e inhibidor del envejecimiento. *Control de alimentos* , 155 , 110060. 10.3389/fmicb.2024.1362479
- Zhang B, Tan W, Zhou J, Ye L, Jia D, Li X. 2022. Physiological changes and gene responses during *Ganoderma lucidum* growth with selenium supplementation. *PeerJ* 10:e14488
<https://doi.org/10.7717/peerj.14488>
- Zhang B, Zhou J, Li Q, Gan B, Peng W, Zhang X, Tan W, Jiang L, Li X. 2019. Manganese affects the growth and metabolism of *Ganoderma lucidum* based on LC-MS analysis.
<https://doi.org/10.7717/peerj.6846>
- Zhang, Y., Hongfei, C., Tao, Z., Yuan, Ch., Jiang, Z., Liu, J., Kurihara, H.y Xu, W. (2021). *Ganoderma lucidum* spore oil (GLSO), a novel antioxidant, extends the average life span in *Drosophila melanogaster*. *Food Science and Human Wellness*, 10(1), 38-44. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.05.011>
- Zulkarnain, M. A., Shahrman, M. K., & Yudin, A. S. M. (2020). Experimental study of drying characteristics of cocoa bean in a swirling fluidized bed dryer. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 863(1), 0–9. 10.1088/1757-899X/863/1/012048

11. ANEXOS



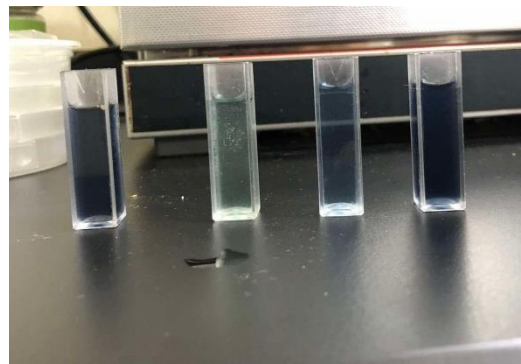
Anexo 1. Hongo *Ganoderma Lucidum*



Anexo 2. Obtención de beta lucanos



Anexo 3. Liofilizado del extracto microencapsulado



Anexo 4. Color de las muestras después de cuantificar polifenoles por espectrofotómetro UV/VIS



Anexo 5. Barra de chocolate con adición de extracto de *Ganoderma Lucidum*