

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

Proyecto start-up: Restart

Liseth Carolina Figueroa Medina

Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de Ingeniero/a en Biotecnología

Quito, 17 de diciembre de 2021

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencia Biológicas y Ambientales

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

Proyecto start-up: Restart

Liseth Carolina Figueroa Medina

Nombre del profesor, Título académico

María José Pozo, MBS

Quito, 17 de diciembre de 2021

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Liseth Carolina Figueroa Medina

Código: 00202262

Cédula de identidad: 0502791346

Lugar y fecha: Quito, 17 de diciembre de 2021

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

La población adulta de Ecuador consume en promedio 3,1 litros de alcohol per cápita. Los tratamientos tradicionales contra la resaca en el país son poco eficientes y en ocasiones generan efectos adversos. Por estas razones, el emprendimiento Restart presenta un tratamiento preventivo contra la resaca. El producto desarrollado consiste en una bebida probiótica compuesta de microorganismos genéticamente modificados (*Bacillus subtilis* ZB183), los cuales son capaces de degradar acetaldehído de forma transitoria en el intestino. De manera que disminuye la carga de trabajo del hígado tras la ingesta de bebidas alcohólicas, y reduce los síntomas de la resaca fomentando el bienestar del individuo. La cepa *B. subtilis* ZB183 fue modificada mediante recombinación homóloga por Zbiotics y está protegida bajo la patente US10849938B2. El presente trabajo describe la implementación de una planta productora de bebidas probióticas en base a *B. subtilis* ZB183. El desarrollo del producto se divide en dos módulos, generación de biomasa seca y bebida saborizada. Adicionalmente, se describe el mercado objetivo de Restart y el análisis económico mediante proyecciones de ingresos – egresos durante los primeros cinco años. Por consiguiente se determinó que el emprendimiento es rentable, con potencial de expansión y seguro para inversiones externas.

Palabras clave: Acetaldehído, recombinación homóloga, *Bacillus subtilis* ZB183, probiótico, bienestar.

ABSTRACT

The adult population of Ecuador consumes an average of 3.1 liters of alcohol per capita. Traditional hangover treatments in the country are not very efficient, and sometimes have adverse effects. Therefore, the Restart venture presents a preventive treatment against hangovers. The developed product consists of a probiotic drink composed of genetically modified microorganisms (*Bacillus subtilis* ZB183). This microorganisms are capable of temporarily degrading the acetaldehyde in the intestine. Thus, it reduces the workload of the liver after the intake of alcoholic beverages, reduces the symptoms of a hangover, and promotes the well-being of the individual. The strain *B. subtilis* ZB183 was modified by homologous recombination by Zbiotics, and is protected under patent US10849938B2. The present work describes the implementation of a probiotic beverage production plant based on *B. subtilis* ZB183. The development of the product is divided into two modules: generation of dry biomass, and flavored beverage. In addition, the target market for Restart and the economic analysis are described through projections of income-expenses during the first five years. Consequently, it was determined that the venture is profitable with potential of expansion, and insurance for external investments.

Key words: Acetaldehyde, homologous recombination, *Bacillus subtilis* ZB183, probiotic, wellness.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	11
Tecnología.....	13
Propiedad Intelectual	15
Análisis De Mercado.....	16
Alianzas Estrategicas	18
Estructura y Organización.....	19
Plan Operativo	20
Plan Financiero	22
Conclusiones	24
Tablas.....	25
Figuras.....	27
Referencias bibliográficas.....	29
Anexos	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Obtención precio de venta prospectivo.....	25
Tabla 2. Gastos operacionales mensuales	25
Tabla 3. Proyección Estado de Resultados enero 2022 – diciembre 2026.	26
Tabla 4. Plan de devolución de capital inversionistas	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tecnología de recombinación homóloga.	27
Figura 2. Logo de startup Restart.....	27
Figura 3. Diagrama organizacional de Restart.....	28
Figura 4. Cadena de suministros Restart.	28

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Degradación tradicional de acetaldehído en el hígado versus tecnología licenciada por Restart.....	31
Anexo 2. Diagrama de flujo de la producción de bebida probiótica.	32
Anexo 3. Formulación medio de cultivo inóculo y medio de cultivo fermentador.....	33
Anexo 4. Formulación bebida saborizada	33
Anexo 5. Valor unitario de los equipos requeridos para la producción de la bebida probiótica	34

INTRODUCCIÓN

La resaca ocurre en consecuencia a la ingesta de bebidas alcohólicas. Los síntomas incluyen fatiga, náuseas, dolor cefálico, dolor muscular, irritabilidad y aumento de la presión arterial (NIAAA, 2021). Es importante recalcar que los síntomas pueden variar entre personas. El etanol, durante su digestión, genera una toxina denominada acetaldehído, la cual, al concentrarse en el tracto digestivo, se transporta por solubilidad a través del torrente sanguíneo hacia todo el cuerpo causando inflamación. El hígado es el responsable de oxidar el acetaldehído mediante enzimas deshidrogenasas, las que convierten la toxina en acetato compuesto no tóxico del metabolismo del alcohol. No obstante, cuando un individuo toma alcohol, las enzimas degradadoras escasean; en consecuencia, el tiempo de recuperación del individuo se extiende (Corredor, 2017). Estos efectos tóxicos están bien documentados, por lo que se ha demostrado que la reducción de acetaldehído alivia los síntomas de la resaca (NIAAA, 2021).

La misión de Restart es otorgar soluciones biotecnológicas a problemas comunes que, a pesar de su gravedad, han sido relegados a tratamientos tradicionales, como es el caso de la resaca. Por ello, el presente proyecto describe la producción de una bebida probiótica a partir de la cepa modificada *Bacillus subtilis* ZB183, que promueve la degradación transitoria de acetaldehído en el intestino. La bebida probiótica cumple como tratamiento preventivo contra la resaca; de esta manera, la ingesta de la bebida reduce la carga de trabajo del hígado, promueve el bienestar del individuo tras el consumo de bebidas alcohólicas y fomenta el consumo responsable de estas. El producto se presenta en botellas de volumen 20 ml de un solo uso, que deben ser ingeridas antes de consumir bebidas alcohólicas. El envase se divide en dos secciones: la biomasa seca y la bebida saborizada, unidas por un mecanismo de activación que mezcla las dos sustancias.

Los probióticos, según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación corresponden a “microorganismos vivos que confieren beneficios en la salud del huésped tras ser ingeridos” (Bennet et al., 2019). Los organismos probióticos, ya sean bacterias u hongos, requieren de ciertas características para ejercer su mayor potencial terapéutico; por ello deben sobrevivir, persistir transitoriamente o colonizar en el tracto intestinal. Con el fin de comprobar la funcionalidad de los microorganismos, estos atraviesan una serie de pruebas (Isolauri et al., 2004).

En el caso de *Bacillus subtilis* ZB183, este presenta resistencia a fluidos gastrointestinales en su forma esporulada, es decir, que sus esporas sobreviven al tránsito de la barrera del estómago, resisten a condiciones ácidas de pH 2 - 3, sales biliares y otras condiciones hostiles (Appala et al., 2019). Las esporas, al encontrarse en el tracto digestivo, germinan incrementando la población de células vegetativas necesarias para el efecto probiótico y opcionalmente la resporulación que implica la supervivencia de los microorganismos en el intestino a largo plazo. La capacidad de germinación de la espora es clave para el efecto probiótico, acción enzimática, inmunomoduladora y secreción de antimicrobianos (Holzapfel y Schillinger, 2002). El género *Bacillus*, en forma vegetativa, produce enzimas extracelulares que promueven la digestibilidad y absorción en adición a la función inmune del intestino (Stamenković et al., 2020). La producción industrial de probióticos es posible mediante biorreactores en condiciones específicas que permitan la formación de biomasa bacteriana en grandes cantidades y alta productividad del cultivo. A continuación, se describe la tecnología de la modificación genética y el procedimiento industrial de bajo costo y competitivo para la producción de la bacteria probiótica formadora de esporas *Bacillus subtilis* ZB183.

TECNOLOGÍA

En los últimos años se ha observado la aplicación de técnicas de biología molecular en sectores productivos, ya sean de uso diario o de consumo humano, debido a que ofrecen la oportunidad de modificar y mejorar propiedades genéticas de organismos vivos como plantas y microorganismos. Las herramientas de modificación genética aplicadas en microorganismos en la industria de los alimentos han generado aditivos, biomasa microbiana, pigmentos e incluso nuevos alimentos (Castañeda, 2021).

Para elaborar la bacteria probiótica modificada se utilizó ingeniería genética mediante la técnica de recombinación homóloga, la cual es análoga a la herramienta “buscar-reemplazar”. La parte externa del ADN que se va a insertar contiene una secuencia idéntica a la región del ADN que se busca intercambiar. Cuando la maquinaria genética de la bacteria coincide con los tramos, reemplaza el ADN propio con el fragmento genético del tramo idéntico de ADN externo. Mediante tijeras moleculares, se reconocen los fragmentos diana y se cortan los fragmentos. La segunda maquinaria realiza el empalme del ADN externo en el genoma bacteriano y se obtiene un nuevo diseño de fragmento de ADN que las bacterias recombinan en su propio código genético (Figura 1) (Abott, 2019).

El lugar que se busca reemplazar es la secuencia que codifica para la proteína flagelina en *Bacillus subtilis* PY79, por lo que se copiaron los extremos que flaqueaban esta secuencia, para crear los extremos diana. El reemplazo se lo realizó con la secuencia codificadora de la enzima deshidrogenasa AcoD procedente de la betaproteobacteria gramnegativa ampliamente estudiada llamada *Cupriavidus necator*. Este procedimiento dio origen a *Bacillus subtilis* ZB183. Para comprobar la modificación genética se realizó la secuenciación del genoma de *Bacillus subtilis* ZB183. Se añadieron interruptores de prendido-apagado y se obtuvo un microorganismo útil, que no produce flagelina sino proteínas antiacetaldehído. De esta manera,

la ruta metabólica para la producción constitutiva de la enzima deshidrogenasa AcoD fue completada en *Bacillus subtilis* ZB183. El producto final es capaz de degradar acetaldehído durante su trayecto en el intestino (Anexo 1) (Appala et al., 2019).

La cepa *Bacillus subtilis* PY79 y *Cupriavidus necator* han sido reconocidas por la FDA como una bacterias de tipo GRAS (generalmente reconocida como segura). Esto se debe a que el ser humano está expuesto frecuentemente a estas bacterias en el medio ambiente. Además, el género *Bacillus* se encuentra naturalmente en la microbiota del intestino (Abott, 2019).

Restart pretende utilizar a *Bacillus subtilis* ZB183 para la producción de biomasa seca a nivel industrial mediante biorreactores *fed batch*. De esta manera, se obtienen los microorganismos para elaborar la bebida probiótica. El envase está dispuesto en dos secciones: la tapa contiene la biomasa seca y la botella contiene la bebida saborizada. La biomasa seca es aislada para incrementar su vida de anaquel. Las sustancias son mezcladas mediante un dispositivo activado por el consumidor que libera la biomasa seca hacia la bebida saborizada. La biomasa seca, tras un proceso especializado de esporulación, contendrá 2000 millones de esporas de *B. subtilis* ZB183, las cuales se activan en el intestino donde perduran transitoriamente durante 18 horas.

PROPIEDAD INTELECTUAL

Restart se inspiró en la patente US10849938B2 obtenida en Estados Unidos en 2018 por Zbiotics Co. Esta patente protege el proceso de obtención del microorganismo recombinante que expresa una proteína determinada.

Al ser una invención protegida, Restart recurrió a la solicitud de licencia de patente para Latinoamérica. Primero, Zbiotics recibió un correo sobre el interés de Restart de obtener el permiso para comercializar la bacteria probiótica modificada. Entre las partes, se llegó a un acuerdo de pago de USD 4000 por 100 gr de biomasa seca, y regalías comerciales anuales del 8 %. Tras estos acuerdos, se procedió con el trámite nacional en el Servicio Nacional de Derechos Intelectuales (SENADI), donde se emitió un formulario con los datos de la licencia para uso comercial, y se adjuntaron los documentos que respalden la información: una declaración juramentada para determinar que el producto será para el abastecimiento del mercado interno; una carta con la que se pruebe la autorización del titular de los derechos “en términos y condiciones comerciales razonables”, y la propuesta de análisis del precio del producto a comercializarse para el régimen de licencias obligatorias. Es deber del SENADI analizar el caso y rechazar o aceptar la solicitud (SENADI, 2010).

Se eligió la licencia de patente de invención porque Restart es un producto novedoso en el mercado ecuatoriano con alto potencial industrial y comercial. De igual manera, se registró el derecho de marca en Ecuador. Se optó por el registro de marca tradicional (Figura 2), nombre comercial Restart y lema comercial “*In probiotics we trust*”; de esta manera, se evita que la competencia copie el nombre del producto, se promueve la diferenciación de la marca y se descarta que otras empresas en el país desarrollen productos similares.

ANÁLISIS DE MERCADO

El consumo de alcohol de adultos total per cápita de Ecuador, en el 2018, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), fue de 3,5 litros para ambos géneros; existe mayor prevalencia en hombres 5,1 litros y en mujeres 1,6 litros (WHO, 2018). Adicionalmente, según estudios pospandemia, las cifras indican que debido a la ansiedad del encierro, las personas tienden a incrementar los patrones de consumo de alcohol. Es decir, que las personas tienden a consumir alcohol en sus hogares y en actividades al aire libre (Garcia et al., 2021).

El mercado inicial de Restart será la población de Quito hombres y mujeres en rango de edad de 18 a 35 años, que representan el 17,08 % de la población total de Pichincha — 3 228 233 hab.— (INEC, 2020); el 17,08 % corresponde a 551 382 hab. De este porcentaje total de habitantes, se estima que el 25 % consume bebidas alcohólicas en actividades de ocio que corresponde a 137 846 hab. (INEC, 2013). Por estas razones apostamos vender nuestro producto al 16 % de personas consumidoras de bebidas alcohólicas en Pichincha, con enfoque en Quito, que corresponde a 22 055 hab. A partir de esto, se buscan futuras ventas en otras ciudades como Cuenca y Guayaquil, donde incrementa el mercado de consumo de alcohol por actividades de ocio.

Actualmente, en el país no existe un producto o tratamiento preventivo similar. La mayoría de productos ofertados para la resaca no reducen significativamente la gravedad de los síntomas. Algunos compuestos son específicos para vómitos y dolor de cabeza, pero no son efectivos para reducir otros síntomas comunes de la resaca, como la somnolencia y la fatiga (Vester y Penning, 2010). Así, se considera ideal un producto que acelere el metabolismo del alcohol como Restart.

Los tratamientos posresaca, dependiendo de la cantidad de alcohol ingerido, cuestan entre USD 6 y USD12. Por ejemplo, el tratamiento de resaca leve compuesto por Complejo B

Tonwas USD 1,50 + 2 pastillas analgésicas acetaminofén 1 gr 0,60\$ + antiácido Salt Andrews USD 0,30 + Suero Oral USD 3,55, cuestan aproximadamente USD 5,95 (Fybeca, 2021). En este caso, el uso de acetaminofén puede resultar tóxico para el hígado, al igual que otros analgésicos como aspirina e ibuprofeno incrementan la liberación de ácido e irritan el revestimiento del estómago (NIAAA, 2021). La segunda opción común utilizada por quiteños son los sueros multivitamínicos con un precio de USD 12 (NaturalVitality, 2021). Estudios sobre tratamientos intravenosos no han encontrado correlaciones entre la gravedad de la resaca y el impacto de los electrolitos añadidos (NIAAA, 2021). En casos más severos, la ingesta indebida de alcohol conduce a intoxicaciones que requieren asistencia médica hospitalaria la cual es muy costosa. Cabe recalcar que las resacas son dolorosas y peligrosas, ya que acciones como toma de decisiones y coordinación muscular son afectadas. La capacidad de realizar tareas importantes como conducir, operar maquinaria, cuidar a otros organismos se ve afectada negativamente (OECD, 2021).

Restart ofrece un precio de venta prospectivo por unidad de USD 1,02. El precio se obtuvo tras el análisis de costo unitario donde se estimaron los costos directos de materia prima, mano de obra directa y costos indirectos fijos por unidad producida. A este valor se añadió el costo de comercialización más el componente de ganancia que resultó con un margen del 200 % de utilidad (Tabla 1). El precio base corresponde a la mínima cantidad monetaria que se puede vender el producto a distribuidores. Es un precio adecuado y competitivo frente a las alternativas para tratar la resaca, con el que se espera ocupar el nicho de tratamientos contra resaca, logrando consolidar el producto en la gran mayoría de ecuatorianos.

ALIANZAS ESTRATEGICAS

Al ser un producto dependiente del consumo de bebidas alcohólicas, se busca aliarse con empresas que se relacionen con el cliente potencial, es decir, personas que compran alcohol. En este segmento, se eligieron a cuatro distribuidoras de licores en Quito: El bodegón, la Cigarra, Divino gourmet y la Guarda. Estas empresas se especializan en la distribución de diferentes bebidas alcohólicas a negocios más pequeños y venta directa al consumidor de estrato medio-alto en sus locales comerciales. Así, se desarrollo un acuerdo formal de corto plazo, en el cual se detalla como el producto Restart estará disponible en el local comercial. A cambio de esta alianza, la empresa promulgará el consumo responsable de bebidas alcohólicas, mientras que Restart compartirá publicidad con las empresas descritas. También se organizarán webinars y eventos con las empresas aliadas para fomentar el consumo responsable de bebidas alcohólicas. La ventaja competitiva que tiene Restart es que estará ubicado en locales comerciales de bebidas alcohólicas. Por medio de esta alianza, también las empresas aliadas se beneficiarán por incorporar en sus políticas el consumo responsable de bebidas alcohólicas y, por ende, incrementarán ventas de ciertas bebidas alcohólicas.

Para la segunda alianza se trabaja con los proveedores de materia prima. La empresa elegida fue Pasteurizadora Quito, la cual dispone el suero de leche que servirá como materia prima que reemplaza el agua destilada en el biorreactor para el cultivo de *Bacillus subtilis* ZB183. Se realizará un acuerdo formal a largo plazo, para tener la seguridad de que se entregará el suero de leche. Así, en el acuerdo se detallará la cantidad de materia prima a entregarse semanalmente y el precio. A cambio, la empresa “Pasteurizadora Quito” se beneficia por publicidad ambiental, ya que sus desechos son reutilizados evitando la contaminación de ríos en el país.

ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN

El modelo de estructura organizacional que se eligió es el de estructura plana o “*Flat structure*”. Este modelo permite una adecuada y directa comunicación, los procesos de coordinación y planificación son veloces al no tener varios niveles jerárquicos. Adicionalmente, la estructura plana permite que los procesos creativos y mejoras de producto sean más eficientes. Los directores y empleados, en general, reciben más responsabilidad ya que cumplen funciones de áreas fusionadas; de esta manera, las opiniones del grupo cuentan en el proceso de toma de decisiones (Creately, 2021).

El diagrama organizacional se presenta en la Figura 3, se describen dos áreas: administración y producción. El área de administración se encargará de gerencia general, contabilidad, finanzas, aprovisionamiento de materia prima, contacto de proveedores, recursos humanos, marketing, venta y logística para la entrega de productos. En esta área se encuentra Liseth Figueroa como gerente general, que trabajará en conjunto con un especialista contable.

El área de producción y control de calidad estará conformada por 2 personas. En esta área el personal será el responsable del proceso productivo de la bebida probiótica. Se encargarán de monitorear los procesos de fermentación, empaquetamiento y almacenamiento hasta la distribución del producto. Un individuo será el responsable o jefe de planta con su correspondiente ayudante que actuará en tareas más laboriosas. En total, la organización inicia con 4 individuos y con un soporte de asesoría externa en caso de necesitarlo.

PLAN OPERATIVO

La central de producción estará ubicada en el parque industrial de Sangolquí, en una bodega arrendada. La bodega cuenta con cuatro zonas: las oficinas que corresponden a la parte administrativa, el comedor que cumple la función de zona de descanso, un pequeño laboratorio y la zona de producción que corresponde el 70 % de la bodega.

La cadena de suministros (Figura 4) inicia tras la entrega de reactivos y materiales en el lugar de fabricación. En el laboratorio de la fábrica se evalúan las materias primas (cepas, suero de leche y otros reactivos). Al recibir y registrar la materia prima se inicia con el proceso de producción que se divide en dos módulos, primero la producción de biomasa seca y segundo la producción de bebida saborizada (Anexo 2).

Para la obtención de biomasa seca, primero se obtiene el inóculo madre que posteriormente será añadido al medio de cultivo de 50 l (Anexo 3) para iniciar el proceso de fermentación *fed batch* que durará 60 horas para obtener $6,5 \times 10^{10}$ esporas/ml. Entre la hora 54-55, antes de finalizar el ciclo, se añade glucosa para fomentar la esporulación y evitar la autólisis de las bacterias (Ruiz et al., 2021). Al finalizar la producción se evalúa la calidad de los microorganismos y su producción de esporas. Al obtener el número deseado de esporas por mililitro y baja autólisis de las bacterias, se procede a centrifugar la biomasa para secarla en un *spray dryer*. Posteriormente, se almacena 6 gr del producto en la tapa de la botella de 20 ml.

Para la producción de bebida saborizada, se mezclan los edulcorantes, saborizantes y agua (Anexo 4). Posteriormente, el líquido obtenido se embotella y sella con las tapas que contienen la biomasa seca aislada. Las botellas son empacadas en cartones de 6 unidades y almacenadas hasta su distribución en cuartos con control de temperatura.

Se distribuye el producto en almacenes de bebidas alcohólicas, supermercados, farmacias y restaurantes. De esta manera la bebida probiótica llega al consumidor final.

Adicionalmente, se desarrolla una página web para ofertar el producto. La tienda virtual contiene datos interesantes sobre la elaboración, explicaciones sobre la seguridad del producto y permisos. Se expone el producto en campañas publicitarias de redes sociales (Facebook, Instagram, Tiktok, anuncios de Google, YouTube y WhatsApp). Mediante las acciones publicitarias, se captarán nuevos clientes, a quienes, dependiendo de la demanda y cercanía, se dirigirán a los distribuidores autorizados. Al ser un producto nuevo que se está consolidando en el mercado, la segunda etapa es la inmersión del producto en supermercados y redes de distribución farmacéuticas.

El valor intangible de Restart se divide en tres pilares: la tecnología que va en conjunto con la marca; el equipo de trabajo, y nuestros clientes. La tecnología de Restart está protegida por la patente de propiedad intelectual, que asegura que la calidad ofertada solo pertenece a la marca registrada Restart. En consecuencia, el prestigio y reconocimiento de la marca generan la oportunidad de crear franquicias. El equipo de trabajo es muy valorado por su esfuerzo y dedicación, son el corazón de Restart y quienes permiten que los procesos sean exitosos. Finalmente, los clientes son nuestra inspiración para desarrollar productos en pro de su bienestar. Restart, mediante microorganismos probióticos, otorga energía y vitalidad a los consumidores, promoviendo un cambio de mentalidad hacia los múltiples beneficios que tienen los microorganismo tradicionales y genéticamente modificados.

Las expectativas a futuro de la *startup* es continuar con el desarrollo de productos funcionales que potencien la microbiota inestinal del ser humano y fomenten un estilo de vida saludable. Es decir, que en conjunto a buena alimentación, ejercicio e hidratación, el consumo de probiótico sea el adicional para fortalecer su salud.

PLAN FINANCIERO

El plan financiero presenta como base el mercado ecuatoriano con un análisis proyectivo de ventas desde enero del 2022 hasta diciembre del 2026. Para la elaboración, se estimó el costo de equipos, para obtener el costo unitario del producto; se consideraron los costos fijos directos, y los costos variables se utilizaron para determinar los gastos operativos mensuales.

La planta de producción requiere de una inversión inicial en equipos de USD 82 273,80 (Anexo 5), equipamiento conformado de instrumentos de laboratorio e industriales indispensables para la actividad de la empresa. En la determinación de los gastos operativos mensuales (Tabla 2), se tomaron en cuenta gastos de gerencia, administración y ventas, gastos no financieros, transporte, gastos financieros, servicios básicos, entre otros, que resulta en un valor mensual de USD 6033,00.

Con estos datos, se estableció el punto de equilibrio que consistió en la división de los gastos fijos operativos sobre el margen de contribución unitaria. Se obtuvo un punto de equilibrio mensual de 7248 botellas, las cuales cubren los gastos de operaciones de la empresa. El número de botellas representa al 17 % de la producción mensual. Se espera superar este objetivo, ya que la producción máxima mensual corresponde a 42 000 botellas, con tendencia a mejorar con respecto a la producción de biomasa seca.

El estado de resultados (Tabla 3) refleja los ingresos desde enero del año 2022 con el 50 % de producción, con crecimiento en ventas interanual del 25 %; es decir, que en el 2023 se esperan ingresos correspondientes al 75 % de producción, y al tercer año, 2024, se esperan ingresos por el 100 % de capacidad de producción sin cambio del precio. Los costos de venta del estado de resultados presentan un crecimiento inflacional del 2 % cada año. Además, en el año 2025 y 2026 se tendrá un incremento de 10 centavos al precio de venta base.

Tras estas estimaciones, se establece que el valor de la empresa, al quinto año, es de 671 630,53 USD. Por ello, se oferta el 15 % de las acciones de la empresa con el pago anual del 12 % de utilidades brutas a cambio de 100 000 USD por inversión inicial durante los primeros cinco años. A partir del sexto año, se entregarán utilidades netas correspondientes al 15 %. Cabe mencionar que la empresa, desde el primer año, percibe ganancias.

El pago sobre utilidades brutas es mayor que el pago sobre utilidades netas, ya que los inversionistas reciben su porcentaje antes del pago de impuestos y porcentaje correspondiente a trabajadores. En consecuencia, la devolución del capital inicial por 100 000 USD se recupera al cuarto año, según el plan de devolución presentado (Tabla 4), lo que proyecta que los accionistas empezarían a recibir utilidades en el quinto año. En el flujo de caja se observa que, en 2022, el inversionista recibirá USD 9840 de total; mientras que en 2023, el valor se duplicará a USD 18 561,53; de la misma manera, en los años siguientes, la rentabilidad incrementará ya que el producto se consolida en el mercado. Al quinto año, se estima que las ganancias de los inversionistas sean superiores USD a 36 000 anuales a partir de ese punto. Basándonos en el análisis de flujo de caja, se observa que el proyecto es rentable a corto y largo plazo.

El uso correcto de estrategias y canales de ventas maximizarán los ingresos esperados, lo que conlleva a mejor rentabilidad y a la par fiabilidad en el mercado ecuatoriano.

CONCLUSIONES

Los tratamientos ofertados para la resaca no son eficientes para aliviar los diferentes síntomas. Además, el perjuicio generado en el individuo tras la ingesta de alcohol corresponde a pérdidas sociales y económicas. La propuesta de un tratamiento preventivo que contribuya en la degradación de acetaldehído, tras la ingesta de bebidas alcohólicas, es ideal para mantener el bienestar del individuo. Por esta razón, Restart se presenta como un proveedor de bebidas probióticas antiresaca con la finalidad de fomentar el consumo responsable de bebidas alcohólicas, priorizar la salud y mejorar estilo de vida de los consumidores de alcohol.

Restart utiliza en la formulación de la bebida microorganismos probióticos genéticamente modificados, con el objetivo de solucionar un problema específico que es la resaca. La cepa de *B. subtilis* modificada presenta alto potencial para el desarrollo y producción de probióticos en nutrición humana, con proyecciones a nuevos productos funcionales. Adicionalmente, el proceso biotecnológico para producir probióticos es rentable, altamente eficiente y consiente con el ambiente, ya que utiliza suero de leche y cáscara de mandarina como materiales del medio de cultivo para el biorreactor.

El mercado inicial del emprendimiento será la ciudad de Quito, con proyecciones de expansión a otras ciudades del país como Cuenca y Guayaquil. El análisis de flujo de caja de los primeros 5 años, con crecimiento de ventas interanual del 25 % indica que el proyecto es rentable ya que se obtendrán ganancias desde el primer año. Lo que permite que los inversores de capital reciban utilidades desde ese punto en adelante.

Finalmente, este proyecto tiene un mercado cautivo basado en una patente ausente en Latinoamérica.

TABLAS

Tabla 1. Obtención precio de venta prospectivo

Base de costo materia prima	\$	0,21	
Costo de comercialización	\$	0,20	
Componente base de ganancia	\$	0,81	200% de utilidad
Precio de venta prospectivo	\$	1,02	

Tabla 2. Gastos operacionales mensuales

Gastos gerencia, administración y ventas	\$	5.230,00
Sueldos y salarios	\$	2.350,00
Alimentación	\$	420,00
Gastos ocasionales	\$	50,00
Promoción y publicidad	\$	2.000,00
Suministros de oficina	\$	60,00
Mantenimiento de equipos de computo	\$	40,00
Gastos de movilización	\$	60,00
Gasto servicio asesoría externa	\$	30,00
Amenities	\$	200,00
Gastos de gestión	\$	20,00
Gastos no financieros	\$	150,00
Gastos de seguro y primas	\$	150,00
Mantenimiento instalaciones	\$	60,00
Suministros de aseo	\$	20,00
Mantenimiento en general	\$	40,00
Transporte	\$	50,00
Transporte entregas	\$	50,00
Servicios básicos	\$	540,00
Internet	\$	110,00
Agua	\$	30,00
Energía eléctrica	\$	400,00
Gastos financieros	\$	3,00
Gasto bancario	\$	3,00
		Total gastos operacionales mensuales
		\$ 6.033,00

Tabla 3. Proyección estado de resultados enero 2022 - diciembre 2026

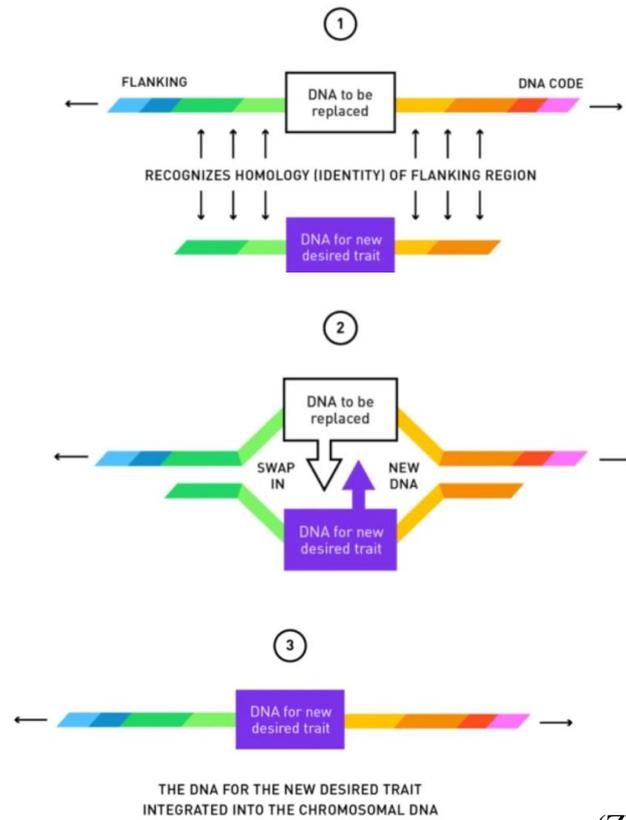
	2022	2023	2024	2025	2026
Ingresos	\$ 257.040,00	\$ 385.560,00	\$ 514.080,00	\$ 564.480,00	\$ 614.880,00
Costo ventas	\$ 102.638,35	\$ 157.036,67	\$ 209.382,23	\$ 219.851,34	\$ 230.843,90
Gastos operacionales	\$ 72.396,00	\$ 73.843,92	\$ 75.320,80	\$ 76.827,21	\$ 78.363,76
Gastos gerencia, administración y v	\$ 62.760,00	\$ 64.015,20	\$ 65.295,50	\$ 66.601,41	\$ 67.933,44
Gastos no financieros	\$ 1.800,00	\$ 1.836,00	\$ 1.872,72	\$ 1.910,17	\$ 1.948,38
Mantenimiento instalaciones	\$ 720,00	\$ 734,40	\$ 749,09	\$ 764,07	\$ 779,35
Transporte	\$ 600,00	\$ 612,00	\$ 624,24	\$ 636,72	\$ 649,46
Servicios básicos	\$ 6.480,00	\$ 6.609,60	\$ 6.741,79	\$ 6.876,63	\$ 7.014,16
Gastos financieros	\$ 36,00	\$ 36,72	\$ 37,45	\$ 38,20	\$ 38,97
Utilidad Bruta	\$ 82.005,65	\$ 154.679,41	\$ 229.376,98	\$ 267.801,45	\$ 305.672,34

Valor empresa \$ 671.630,53

Tabla 4. Plan de devolución de capital inversionistas

Inversión	100000	Porcentaje de Capital					12%
	2022	2023	2024	2025	2026		
Ingresos	\$ 257.040,00	\$ 385.560,00	\$ 514.080,00	\$ 564.480,00	\$ 614.880,00		
Costos variables	\$ 102.638,35	\$ 157.036,67	\$ 209.382,23	\$ 219.851,34	\$ 230.843,90		
Costos fijos	\$ 72.396,00	\$ 73.843,92	\$ 75.320,80	\$ 76.827,21	\$ 78.363,76		
Rentabilidad	\$ 82.005,65	\$ 154.679,41	\$ 229.376,98	\$ 267.801,45	\$ 305.672,34		
Pago a inversionistas	\$ 100.000,00	\$ 90.159,32	\$ 71.597,79	\$ 44.072,56	\$ 11.936,38		
	\$ 9.840,68	\$ 18.561,53	\$ 27.525,24	\$ 32.136,17	\$ 36.680,68		
	\$ 90.159,32	\$ 71.597,79	\$ 44.072,56	\$ 11.936,38	\$ -24.744,30		

FIGURAS



(Zbiotics, 2021).

Figura 1. Tecnología de recombinación homóloga.



Figura 2. Logo de startup Restart.

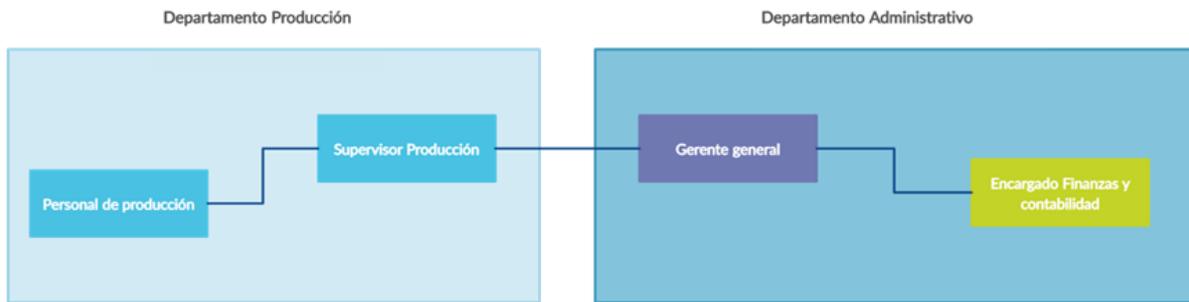


Figura 3. Diagrama organizacional de Restart.

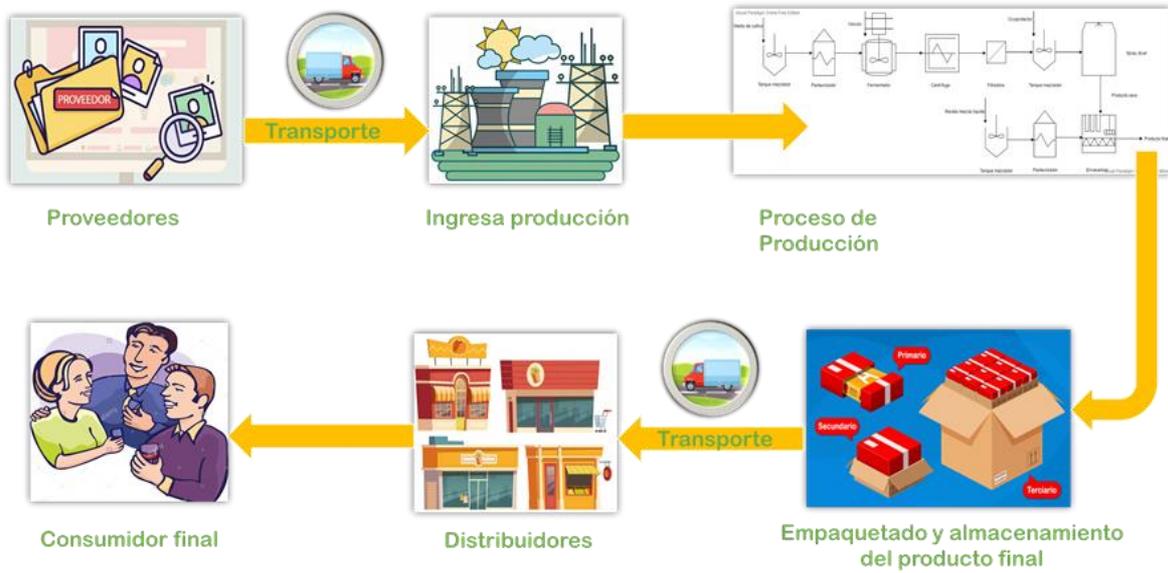


Figura 4. Cadena de suministros Restart.

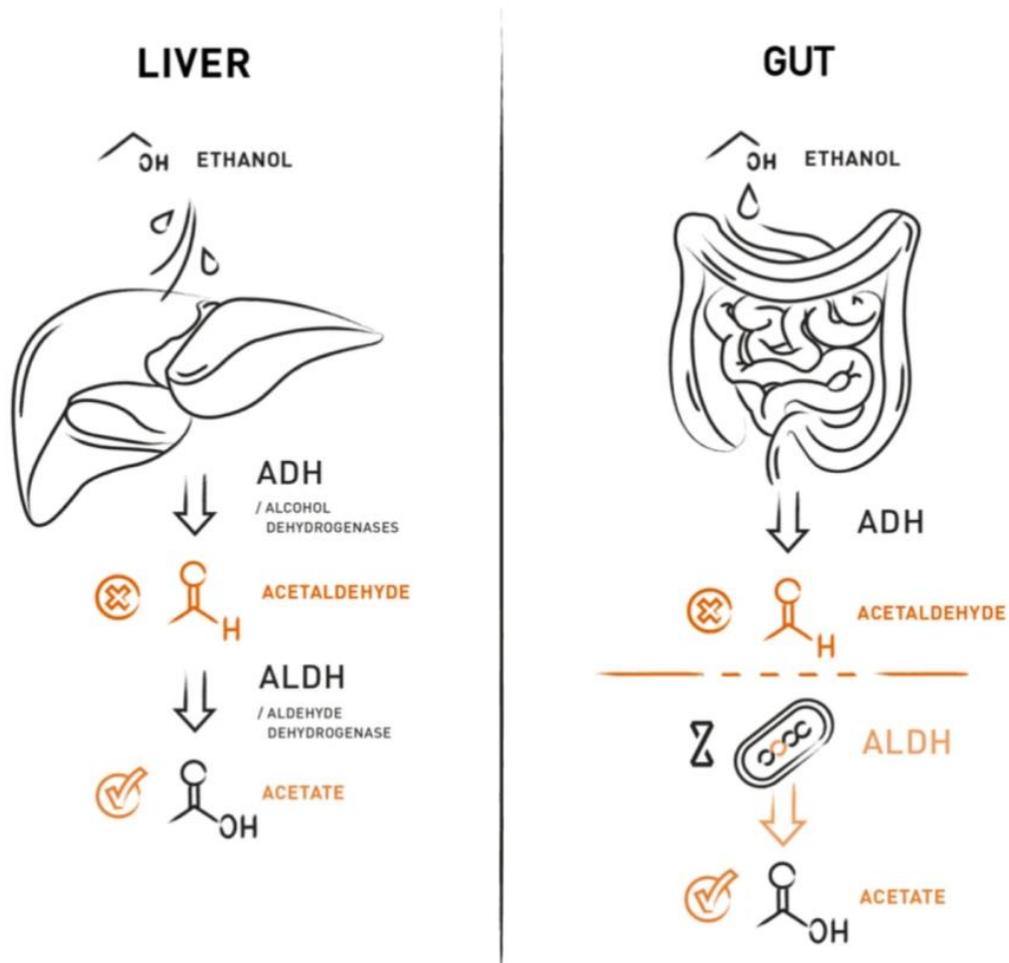
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, Z. (2019, July 5). Engineering ZBiotics Part 2: How we did it. ZBiotics. <https://zbiotics.com/blogs/journal/engineering-zbiotics-part-2-how-we-did-it>
- Appala Naidu, B., Kannan, K., Santhosh Kumar, D. P., Oliver, J. y Abbott, Z. D. (2019). Lyophilized *B. subtilis* ZB183 Spores: 90-Day Repeat Dose Oral (Gavage) Toxicity Study in Wistar Rats. *Journal of toxicology*, 2019, 3042108. <https://doi.org/10.1155/2019/3042108>
- Bennett, J., Dolin, R. y Blaser, J. (2019). Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases E-Book. Elsevier health sciences.
- Cardoso, V., Campani, G., Santos, P., Silva, G., Pires, C., Gonçalves, M., de Giordano, R., Sargo, C., Horta, A. y Zangirolami, C. (2020). Cost analysis based on bioreactor cultivation conditions: Production of a soluble recombinant protein using *Escherichia coli* BL21(DE3). *Biotechnology reports* (Amsterdam, Netherlands), 26, e00441. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00441>
- Castañeda, C. (2021). Nueva bioterapéutica: probióticos de próxima generación. *Revista Cubana de Pediatría*, 93(1).
- Corredor, C. (2017). Metabolismo del alcohol. *Colombia Médica*, 2(1), 29-33.
- Creately. (2021). 7 Types of Organizational Structures (Organizational Chart Types) for Different Scenarios. Creately Blog. https://creately.com/blog/diagrams/types-of-organizational-charts/#3_HorizontalFlat_Structure
- Fybeca. (2021). Fybeca.com Farmacias Fybeca compra sin salir de casa. https://www.fybeca.com/?utm_medium=search&utm_source=facebook&utm_campaign=go_to_market&gclid=Cj0KCQiAqbyNBhC2ARIsALDwAsBsBjM5RYzwwzJydhIWhfA7aQyhuTv-JQglALZFK10eTwEmlfVSrLbsaAoiEALw_wcB
- Garcia, R., Valente, J., Sohi, I., Falade, R., Sanchez, Z. y Monteiro, M. (2021). Alcohol use during the COVID-19 pandemic in Latin America and the Caribbean. *Pan American Journal of Public Health*. <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/53908/v45e522021.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Holzappel, W. H., Schillinger, U. (2002). Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International*, 35(2-3), 109–116. doi:10.1016/s0963-9969(01)00171-5
- INEC. (2013). *Más de 900 mil ecuatorianos consumen alcohol*. Instituto Nacional de Estadística y Censos. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/mas-de-900-mil-ecuatorianos-consumen-alcohol/>
- INEC. (2020). Población y Demografía. Instituto Nacional de Estadística y Censos. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-de-poblacion-y-vivienda/>

- Isolauri, E., Salminen, S. y Ouwehand, A. (2004). Probiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. Vol. 18, Issue 2. Pages 299-313, ISSN 1521-6918. Obtenido de: <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2003.10.006>.
- NaturalVitality. (2021, 9 diciembre). NaturalVitality - Redescubre tu salud. <https://naturalvitality.com.ec/>
- NIAAA. (2021, March). Hangovers | National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA). Niaaa.Nih.Gov. Retrieved October 6, 2021, from <https://www.niaaa.nih.gov/publications/brochures-and-fact-sheets/hangovers>
- OECD. (2021). The effect of COVID-19 on alcohol consumption, and policy responses to prevent harmful alcohol consumption. OECD Policy Responses to Coronavirus (COVID-19). Published. <https://www.oecd.org/coronavirus/policy-responses/the-effect-of-covid-19-on-alcohol-consumption-and-policy-responses-to-prevent-harmful-alcohol-consumption-53890024/#contactinfo-d7e1775>
- Ruiz, S., Bueno, T., de Oliveira, A., Karp, S., Soccol, R. (2021). *Bacillus subtilis natto* as a potential probiotic in animal nutrition. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(3), 355–369. doi:10.1080/07388551.2020.1858019
- SENADI. (2010). Derechos intelectuales. Gobierno de La República Del Ecuador. https://www.derechosintelectuales.gob.ec/wp-content/uploads/PDF/instructivo_concesion_licencias_obligatorias.pdf
- Stamenković, S., Karabegovic, I., Beškoski, V., Nikolić, N., Lazic, M. (2020). *Bacillus subtilis* NCIM2063 batch cultivation: The influence of the substrate concentration and oxygen transfer rate on the biomass yield. *Advanced Technologies*. 9. 44-49. 10.5937/savteh2001044S.
- Verster, J. y Penning, R. (2010). Treatment and prevention of alcohol hangover. *Current drug abuse reviews*, 3(2), 103-109.
- World Health Organization. (2018). Global status report on alcohol and health 2018 (ISBN 978-92-4-156563-9). <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639>
- ZBiotics. (2021). Technology. <https://zbiotics.com/pages/technology>

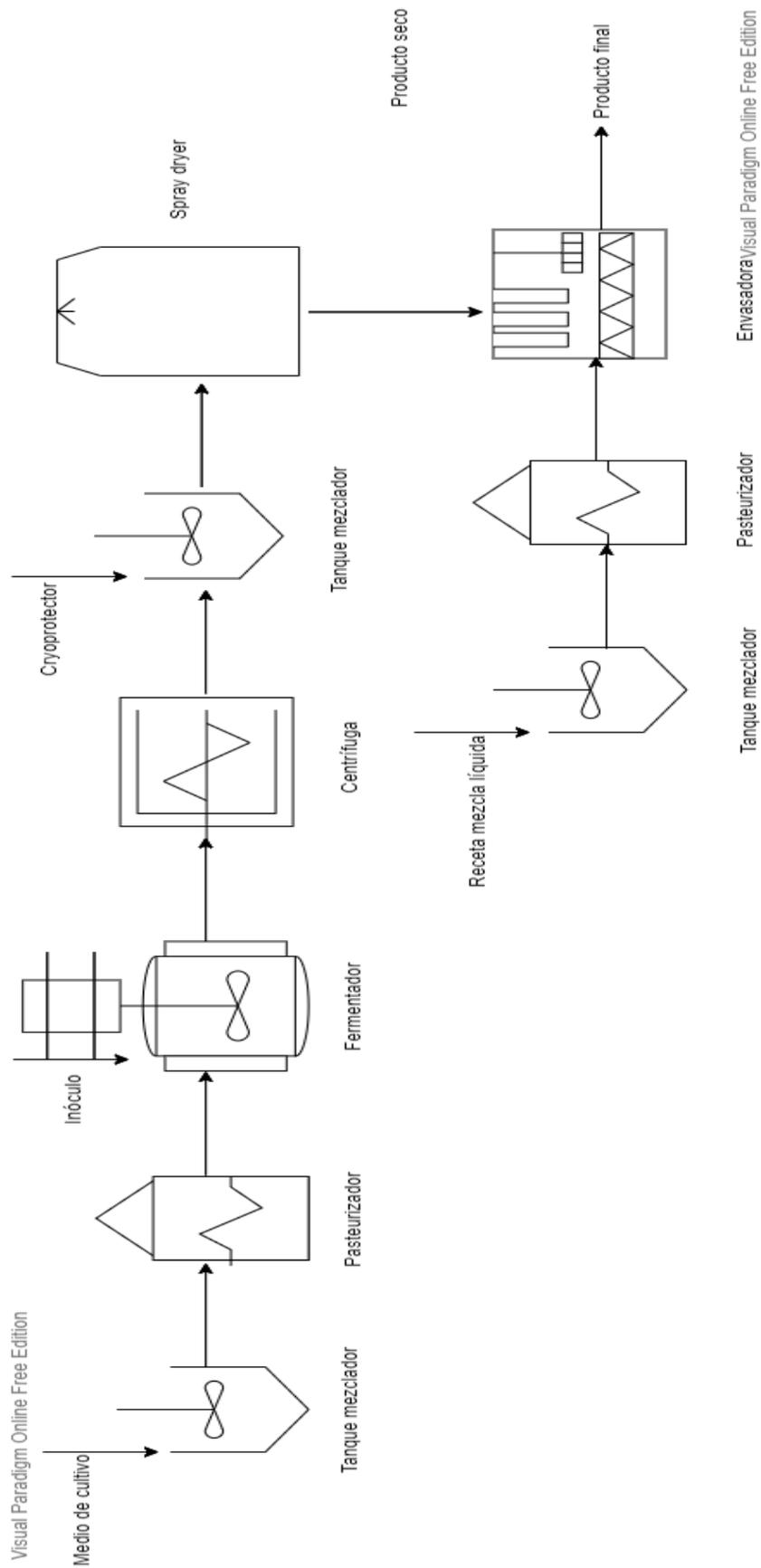
ANEXOS

Anexo 1. Degradación tradicional de acetaldehído en el hígado versus tecnología licenciada por Restart.



(Zbiotics, 2021).

Anexo 2. Diagrama de flujo de la producción de bebida probiótica.



Anexo 3. Formulación medio de cultivo inóculo y medio de cultivo fermentador.

		Para 50 l	Presentación	Precio presentación	Precio 50 l
Inóculo	Bacillus subtilis ZB183	1%	100 gr	\$ 4.000,00	\$ 40,00
	NaCl	25 gr	500 gr	\$ 140,00	\$ 7,00
	Yeast extract	12,5 gr	1 kg	\$ 290,00	\$ 3,63
	Peptona	25 gr	500 gr	\$ 84,00	\$ 4,20
Lote	Peptona	400 gr	500 gr	\$ 84,00	\$ 67,20
	Cascaras de mandarina	2000 gr	5000 gr	\$ 20,00	\$ 8,00
	KH₂PO₄	7,14 gr	25 gr	\$ 72,00	\$ 20,56
	MgSO ₄ .7H ₂ O	25 gr	500 gr	\$ 72,00	\$ 3,60
	Polypropylene glycol	250 ml	1 l	\$ 153,00	\$ 38,25
	Suero de Queso	50 l	1 l	\$ 0,15	\$ 7,50
	Thiamina	1 gr	5 gr	\$ 103,00	\$ 20,60
	Panela	325 gr	5 kg	\$ 2,65	\$ 0,43
	Calcio	60 gr	100 gr	\$ 128,00	\$ 76,80
					Total

Anexo 4. Formulación bebida saborizada

	Porentaje 1 l	Producción 100 l	Costo unitario	Precio para producir 100 l
Agua en kg	89,61%	89,61	\$ 0,00	\$ 0,02
Edulcorante en kilogramos	10%	10	\$ 0,39	\$ 3,92
Sabor artificial kg	0,10%	0,1	\$ 0,00	\$ 0,00
Colorante kg	0,10%	0,1	\$ 0,00	\$ 0,00
Citrato de sodio kg	0,02%	0,02	\$ 2,69	\$ 0,05
Sorbato de potasio kg	0,02%	0,02	\$ 2,76	\$ 0,06
Envase plástico 20 ml	10 000 unidades	76,05	\$ 0,01	\$ 0,76
				Costo por 100 l \$ 4,81
				Costo 20 ml \$ 0,05

Anexo 5. Valor unitario de los equipos requeridos para la producción de la bebida probiótica

Equipo	Valor unitario
Centrífuga de laboratorio	\$ 500,00
Agitador magnético	\$ 678,00
Autoclave	\$ 800,00
Microondas	\$ 100,00
Agitador incubadora	\$ 4.000,00
Marmita auto giratoria de acero inoxidable	\$ 3.000,00
Pasteurizador pirotubular para líquidos de baja viscosidad	\$ 8.000,00
Fermentador tipo Fed-Batch con agitadores, impulsores, control de pH y temperatura.	\$ 16.000,00
Centrifugadora de tipo hidrociclón	\$ 9.000,00
Destilador de agua	\$ 189,00
Spray dryer	\$ 15.000,00
Cuarto frío	\$ 7.500,00
Embotelladora automática de mismo nivel y etiquetadora	\$ 10.000,00
Dispensador biomasa seca y empaquetador	\$ 2.000,00
Matraces de vidrio	\$ 250,00
Juego de pipetas	\$ 195,00
Puntas pipetas	\$ 61,80
Equipo de computo (impresora + Compu)	\$ 3.000,00
Extractor sistema de circulación de aire	\$ 2.000,00
Invercion inicial equipos	\$ 82.273,80