



AgEcon SEARCH

RESEARCH IN AGRICULTURAL & APPLIED ECONOMICS

The World's Largest Open Access Agricultural & Applied Economics Digital Library

This document is discoverable and free to researchers across the globe due to the work of AgEcon Search.

Help ensure our sustainability.

Give to AgEcon Search

AgEcon Search

<http://ageconsearch.umn.edu>

aesearch@umn.edu

*Papers downloaded from **AgEcon Search** may be used for non-commercial purposes and personal study only. No other use, including posting to another Internet site, is permitted without permission from the copyright owner (not AgEcon Search), or as allowed under the provisions of Fair Use, U.S. Copyright Act, Title 17 U.S.C.*

No endorsement of AgEcon Search or its fundraising activities by the author(s) of the following work or their employer(s) is intended or implied.

CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE VINO CON *Vitis vilifolia* L.

BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF WINE MADE WITH *Vitis vilifolia* L.

**Cheluca-Guillermo, S¹; Suastegui-Rizo, R.¹; Vargas-Álvarez, D.^{1*}; Cruz-Cruz, E.²; Damián-Nava A.³;
Palemón-Alberto, F.³; Rodríguez-Batáz, E.¹; Godínez-Jaimes, F.⁴**

¹Laboratorio de Producción Integral de Alimentos y Productos Naturales, Unidad Académica de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas S/N, Chilpancingo, Guerrero, CP 39090, México. Tel: 74 74 72 55 03. ²Instituto nacional de investigaciones forestales agrícolas y pecuarias km 0.5, Zacatepec-Galeana Zacatepec, Edo de Morelos C. P. 62780. ³Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Ambientales; Universidad Autónoma de Guerrero; km. 2.5 carretera Iguala-Tuxpan, Iguala, Gro. tel. 01 733 1-10-15-36. ⁴Unidad Académica de Matemáticas Universidad Autónoma de Guerrero, Segundo piso del Edificio Administrativo, Chilpancingo, Gro. Tel. 747 4715651.

* **Autor de correspondencia:** alvamatil@hotmail.com

RESUMEN

Se determinó el efecto de diferentes técnicas en la vinificación y su efecto en las características fisicoquímicas tales como, actividad antioxidante y compuestos fenólicos del vino tinto elaborado con uva silvestre (*Vitis vilifolia* L.). Se analizaron tres vinos procedentes de diferentes áreas de Guerrero, México, denominadas, Vicario, Reyna y un testigo elaborado en laboratorio. El vino testigo presentó mayor concentración de taninos y abundante contenido de antocianinas (4.5383 mg L^{-1}), fenoles totales ($270.743 \text{ mg L}^{-1}$) ácido tánico y mayor capacidad antioxidante (62.27%), en comparación con los vinos Reyna y Vicario, sin embargo éstos últimos, registraron mayor contenido de saponinas (++) y °Brix con valores de 22.7333 para Vicario y 21.4333 en Reyna. El contenido de alcohol fue de $27.6 \text{ ml } 100 \text{ mL}^{-1}$ para Vicario y $17 \text{ ml } 100 \text{ mL}^{-1}$ en Reyna, y en cuanto a acidez titulable los tres vinos presentaron valores similares obteniendo una media general de $0.683222 \text{ meq L}^{-1}$ de ácido tartárico y media general de IC_{50} de $0.016577 \mu\text{l}$. las diferencias principales se atribuyeron a la adición de azúcar estándar y piloncillo.

Palabras clave: uva, vino, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

ABSTRACT

The effect of different techniques on wine-making was determined, as well as their effect on the physical-chemical characteristics, such as antioxidant activity and phenolic compounds of red wine made with a wild grape (*Vitis vilifolia* L.). Three wines were analyzed from different areas in Guerrero, Mexico, called Vicario, Reyna and a witness made in the laboratory. The control wine presented higher concentration of tannins and abundant content of anthocyanins (4.5383 mg L^{-1}), total phenols ($270.743 \text{ mg L}^{-1}$), tannic acid, and higher antioxidant capacity (62.27 %), compared to the Reyna and Vicario wines; however, the latter showed a higher content of saponins (++) and °Brix with values of 22.7333 for Vicario and 21.4333 in Reyna. The alcohol content was $27.6 \text{ ml } 100 \text{ mL}^{-1}$ for Vicario and $17 \text{ ml } 100 \text{ mL}^{-1}$ in Reyna, and in terms of titrable acidity, the three wines presented similar values obtaining a general mean of $0.683222 \text{ meq L}^{-1}$ of tartaric acid and general mean of IC_{50} of $0.016577 \mu\text{l}$. The main differences were attributed to the addition of standard and brown sugar.

Keywords: grape, wine, phenolic compounds, antioxidant activity.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016. pp: 68-73.



INTRODUCCIÓN

El vino era conocido en todos los pueblos antiguos, desde la India, pasando por Egipto, hasta la Galia y España. En Egipto, el vino que bebían los sacerdotes llegaba desde Fenicia y Grecia. Los romanos heredaron la afición al vino de los griegos, gracias a las viñas plantadas por los etruscos. Los chinos fueron conocedores en el arte de fermentar mostos de uva (*Vitis vinifera* L.) y fueron los primeros en reglamentarlo. Durante la edad media en Europa, la elaboración del vino fue una importante tarea en los monasterios, ya que cada uno poseía su propio viñedo, de donde extraían vinos litúrgicos, de tal modo que los monjes medievales pueden considerarse precursores de la viticultura moderna (cultivo de uva) y vinicultura (fabricación del vino) (Barbado, 2005). El vino es una bebida milenaria proveniente de la uva y sin lugar a dudas la más importante de todas, es la única para la cual se acepta la denominación de vino. Este se realiza a partir de diferentes variedades de *V. vinifera*, cuyo cultivo aún desde el siglo I de nuestra era, se extendía desde el valle del Rin hasta las costas del norte de África, pasando por países del Mediterráneo (Ramírez, 2008). Existen en la actualidad, esfuerzos aislados, que pretenden lograr productos de alta calidad. Hay tantos factores, que influyen en la calidad final de un buen vino, que hacen de esta actividad productiva una combinación de ciencia y arte. Desde tiempos remotos la producción del vino de uva ha logrado poco a poco afinar todos aquellos detalles de calidad que influyen directa o indirectamente en sus características organolépticas, y el vino moderno, sea de uva u otras frutas de partida, pueden lograr altos niveles de calidad (Ortiz, 2007). Es ampliamente conocido, que el consumo moderado de vino es benéfico para la salud, y se relacionan con el contenido de compuestos polifenólicos y propiedades antioxidantes (De Beer *et al.*, 2003; Kanner *et al.*, 1994; Pinho *et al.*, 2012; Rockenbach *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2011; Torres *et al.*, 2002). Los compuestos antioxidantes son capaces de proteger los sistemas biológicos contra la acción dañina de los radicales libres. La evidencia epidemiológica indica que el consumo de alimentos

y bebidas ricos en antioxidantes reduce la incidencia de varios trastornos degenerativos tales como la mutagénesis, carcinogénesis, arteriosclerosis, enfermedad isquémica del corazón, enfermedades neurodegenerativas y envejecimiento (Briviba *et al.*, 2002; Fernández-Mar *et al.*, 2012; Bekhit *et al.*, 2011).

Los vinos son variados de acuerdo al origen por ejemplo: las variedades específicas de fruta como materia prima, cepas especiales de levadura con mayor poder de formación de alcohol, equipos industriales con mejores sistemas de control de proceso, aditivos que ayudan a optimizar la producción y mejorar los niveles de conservación o características organolépticas, entre otros, son herramientas que permiten lograr productos de gran aceptación comercial. Estas transformaciones están

dirigidas a asegurar aspectos fundamentales, tales como, viabilidad del proceso, optimización organoléptica y rentabilidad (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2010). En el estado de Guerrero, México, se recolecta uva silvestre (*Vitis vilifolia* L.), cuya astringencia es elevada y escasos azúcares, sin embargo, se hace vino tradicional en diferentes partes del estado. Los vinos presentan su calidad a partir de la materia prima con la que iniciaron el proceso de fermentación, y el reposo, durante el cual se monitorean las antocianinas, fenoles y taninos. Últimamente se ha evaluado su actividad antioxidante, la acidez y concentración de azúcar, y al final el producto debe reunir las características de sabor, aroma, color, untuosidad, etcétera, de tal forma que sea agradable al consumidor. Para lograr esto, se debe considerar las características intrínsecas de la fruta a emplear, y de ser necesario diluir, hacer mezclas, agregar aditivos o reforzar sabores (Kennedy, 2008). Con base en lo anterior, se caracterizó fisicoquímicamente diferentes vinos elaborados con *Vitis vilifolia* L.

MATERIALES Y MÉTODO

Se llevó a cabo la recolecta de uvas de la especie de vid *Vitis vilifolia* L. en la comunidad de Machito de las Flores Municipio de Cocula, Guerrero, México para preparar el vino; el muestreo fue por conveniencia eligiendo uvas en buen estado, maduras de plantas silvestres, y cortadas de distintas partes del racimo (aproximadamente 10 kg), se maceraron, (epidermis, semillas y pulpa) y el jugo se fermentó durante 30 días con un sello de agua; después de esto, el vino fue filtrado, embotellado y reposado para estabilización y análisis a temperatura de cava de 18 °C. (Figura 1).





Figura 1. Planta y racimos de uva (*Vitis vilifolia* L.). verdes y maduros en condición silvestre en selva baja caducifolia de Guerrero, México.

Para la comparación del vino se recolectaron otros dos vinos elaborados con la misma especie de uva en la misma comunidad. Los vinos recolectados y el obtenido directamente en laboratorio, se analizaron por triplicado el contenido de saponinas, taninos °Brix, pH, acidez titulable, antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante Para la determinación de saponinas, se procedió a agregar 2 ml de vino y 2 aforo a 10 ml con agua destilada, se homogenizó y después agregó cinco gotas de aceite de oliva y se agitaron fuertemente durante cinco minutos, una reacción positiva es cuando se ve la formación de espuma (con apariencia de panal) y que ésta tarde más de 15 min en desaparecer. Para determinar taninos a cada tubo se le agregó 2 ml de vino, y aforo a 10 ml de agua destilada, se homogenizó, y posteriormente se agregó de tres a cinco gotas de FeCl₃, una reacción positiva es cuando da una coloración café verdosa o azul oscura.

La determinación de °Brix se realizó utilizando un refractómetro digital (marca SPER SCIENTIFIC, modelo 300017, 1.3330 to 1.4098 nD, brix 0-45%) con corrección incorporada de temperatura, ajustando a cero con agua destilada, agregando una gota de vino al refractómetro. Para determinar acidez titulable se agregó

a cada tubo 5 ml de vino, y aforo a 30 ml con agua destilada, posteriormente, se tomó una alícuota de 10 ml y depositó en un matraz de 50 ml; inmediatamente se agregó una a dos gotas de indicador fenolftaleína, mientras que en una bureta se colocó NaOH al 0.1 N y dejó caer gota a gota a la muestra hasta que alcanzó un vire de color rosa este debió permanecer de 10-15 segundos, y se calculó el porcentaje de acidez en base al ácido que se encuentra en mayor proporción de acuerdo a la siguiente fórmula (CEE, 1990):

$$\% \text{ de ácido} = \frac{\text{ml NaOH} * \text{N} * \text{Meq.} * \text{V} * 100}{\text{Peso de muestra} * \text{Alicuota}}$$

Para la determinación de pH se utilizó un equipo marca CORNING modelo 7, en la cual se sumergió un electrodo al vino, cabe mencionar que el aparato se calibró utilizando agua destilada y buffer de pH 7.0 y 4.0, una temperatura de 20 °C.

Para la determinación de antocianinas, se agregó a cada tubo 100 µl de vino, después se le agregaron 10 ml de HCl 0.1 N, posteriormente se cubrieron los tubos con papel aluminio por que las antocianinas se degradan con la luz, se agitaron los tubos por un tiempo de

10 min, transcurrido este tiempo se centrifugó (centrifuga SOL-BAT modelo J-500) para clarificar la solución a 1400 rpm durante 30 min, transcurrido este tiempo se leyó el valor de la Absorbancia a 516 nm (espectrofotómetro Thermo Spectronic, modelo Genesys 20) y los cálculos se realizaron utilizando el coeficiente de extinción molar 4.48 nM⁻¹ CM⁻¹ de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{ANTOCIANINAS} = \frac{\left(\text{ABS} \frac{516}{4.48} \text{NM} \right) * 100}{\text{PESO MUESTRA}} * F$$

Para determinar fenoles totales el procedimiento consistió que en agregar a cada tubo 15 μl de vino, 485 μl de agua des ionizada hasta aforar 500 μl , posteriormente se agregaron 8 ml de agua des ionizada, 500 μl de reactivo de Folin después de un minuto, pero antes de ocho minutos se le agregó 1.5 ml de Na₂CO₃ al 20%, se agito vigorosamente y dejó reposar dos horas sin luz, transcurrido el tiempo se leyó el valor de la Absorbancia a 760 nm (espectrofotómetro Thermo Spectronic, Genesys 20). La concentración de fenoles en la muestra se calculó en base a la curva de calibración expresada en mg L⁻¹ de ácido Tánico.

La actividad antioxidante se determinó agregando a cada tubo 5 μl de vino, 995 μl de DPPH, se dejaron reposar durante dos horas en oscuridad, transcurrido el tiempo se leyó el valor de la Absorbancia a 517 nm (espectrofotómetro Thermo Spectronic, Genesys 20), la actividad antioxidante fue expresada como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \% \frac{A - A_1}{A} \cdot 100$$

Los resultados de este método fueron expresados en IC₅₀, el cual se define como la concentración necesaria de muestra para reducir el 50% de la cantidad inicial de DPPH y se expresa como la relación molar de cada componente por radical. Para determinar el grado de alcohol de los tres vinos, se tomaron 250 ml de cada uno, y de forma separada se destilaron en un Rotavapor (CAFRAMO, modelo WB2000) para obtener el contenido de alcohol (CEE, 1990). El diseño experimental fue completamente al azar, triplicando las muestras y analizadas mediante ANDEVA y pruebas de comparación de medias (Tukey; p ≤ 0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los taninos juegan un papel importante tanto en el plano organoléptico como nutrimental ya que son responsables de la astringencia de los vinos tintos y contribuyen significativamente al sabor amargo (De la Cruz *et al.*, 2012). Los vinos presentaron diferencia significativa entre medias en °Brix correspondiendo el mayor valor a la marca Vicario, seguida de Reyna y finalmente el testigo. Los resultados indican, que el vino vicario

fue enriquecido con azúcares extraordinarios por el alto contenido de alcohol y °Brix, y el origen de los azúcares se asume pudo ser piloncillo lo que provoco un cambio de pH altero las antocianinas y disminuyo el contenido de fenoles totales. En cuanto al vino Reyna se considera que el enriquecimiento de azúcares fue con azúcar granulada, ya que mantuvo el pH y contenido medio de alcohol, sin embargo, tanto los fenoles como las antocianinas fueron diferentes estadísticamente respecto al testigo; estos resultados coinciden con lo reportado por Ghetak *et al.* (2014), quienes mencionan, que los vinos de diferente procedencia tienen diferente comportamiento en la actividad antioxidante, fenoles y contenido de azúcares.

La característica, más importante de los vinos es el contenido de taninos, antocianinas y actividad antioxidante (Cuadro 1) (Heras Roger *et al.*, 2014), los vinos comerciales fueron diferentes significativamente en los tres parámetros, esto puede ser debido a las características regionales del procedimiento de cada vino, sin embargo, el contenido de alcohol rebasa, la consignación de vino lo que otros autores mencionan que están fuera de la normatividad debido a suministro de otros azúcares (Cuadro 2) (Di Soto *et al.*, 2013; Yuwa *et al.*, 2012). El vino control (testigo) indicó, que la fermentación natural tiene un mayor contenido de taninos, menor cantidad de alcohol reglamentada para vinos de mesa; mientras que el vino Reyna presentó mayor concentración de alcohol debido a la adición de azúcares, sin embargo la normatividad permite en vinos entre 10% y 15% de volumen de alcohol (Arcari *et al.*, 2013).

Estos resultados son similares a los valores informados por diferentes autores para vinos de otros orígenes (Avalos *et al.*, 2009). Los fenoles presentes protegen al organismo contra enfermedades cardiovasculares y enfermedades degenerativas. Químicamente pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo aromático teniendo uno o más sustituyentes hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales (Heinonen *et al.* 1998).

CONCLUSIONES

El contenido de fenoles y antocianinas del vino testigo fue diferente estadísticamente y de la actividad antioxidante mostro un IC₅₀ mayor a los dos vinos comerciales (Cuadro 2), lo que coincide con Villaño *et al.* (2006), Roussis *et al.* (2006) Mildner *et al.* (1994) Granato *et al.* (2011) Busuricu *et al.* (2013), que el contenido fenólico le confiere actividad biológica a los vinos, debido al anillo fenólico dentro de sus estructuras, sin embargo, el proceso debe ser cuidadoso para evitar que se deterioren en presencia de luz o métodos de elaboración y dosificación. De igual forma, los vinos evaluados elaborados con *Vitis vilifolia* indicó que el testigo presentó mayor concentración de antocianinas compuestos fenólicos y actividad antioxidante, mientras que los vinos comerciales Vicario y Reyna presentaron mayor contenido de °Brix y acidez, atribuido a la adición de azúcares para favorecer mayor palatabilidad y contenido de alcohol.

LITERATURA CITADA

Arcari S.G., Chaves E.S. Vanderlinde R., Rosier J.P., Bordignon-Lui, M.T. 2013. Brazilian fortified wines: Chemical composition, chromatic properties and antioxidant activity. *Food Research International*. 53:164-173.

Ávalos G.A., Pérez-Urria E. 2009. Metabolismo secundario de plantas, *Reduca (Biología)*, Serie Fisiología Vegetal 2:119-145.

Barbado J. 2005. Vinos de elaboración casera, Editorial Albatros, Primera edición, Buenos Aires. República Argentina.

Bekhit A., Cheng V.J., McConnell M., Zhao J.H., Sedcole R., Harrison R. 2011. Antioxidant activities, sensory and anti-influenza activity of grape skin tea infusion. *Food Chemistry*. 129:837-845.

Briviba K., Pan L., Rechkemmer G. 2002. Red wine polyphenols inhibit the growth of colon carcinoma cells and modulate the activation pattern of mitogen-activated protein kinases. *Journal of Nutrition*. 132:2814-2818.

Busuricu F., Negreanu-Pirjol T., Popescu A., Margaritti D., Lupu C., Schroder V. 2013. Evaluation of the antioxidant activity of certain romanian wines. *Journal of Environmental Protection and Ecology*. 14: 1828-1835.

CEE. 1990. *Analyses des Mouts et des Vins*. Office des Publications Officielles des Communautés Européennes. Paris, France. 192 p.

De Beer D., Joubert E., Gelderbom C.A.W., Manley M. 2003. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: free radical scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 902-909.

Cuadro 1. Determinación de saponinas y taninos en tres tipos de vino de *Vitis vilifolia* L.

Vino	Repeticiones	Saponinas	Taninos
Testigo	1	+	+++
	2	+	+++
	3	+	+++
Vicario	1	++	+
	2	++	+
	3	++	+
Reyna	1	++	++
	2	++	++
	3	++	++

Abundante (+++), Moderado (++), Escaso (+), Negativo (-).

Cuadro 2. Características fisicoquímicas de tres vinos de *Vitis vilifolia* L.

Variable\Vino	Vicario	Reyna	Testigo
Grados Brix	22.7333a	21.4333b	4.9333c
antocianinas mg ⁻¹ L	0.2973c	2.0083b	4.5383a
mg ⁻¹ L de ácido tánico	61.033c	91.977b	270.743a
DPPH % de inhibición	8.438b	25.36b	62.27a
% Alcohol en volumen	27.6a	17b	14.8c
PH	3.6a	3.9b	3.7a

Valores por fila seguidos de la misma letra, no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

Fernández-Mar M.I., Mateos R., García-Parrilla M.C., Puertas B., Cantos-Villar E. 2012. Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. *Food Chemistry*. 130:797-813.

Ghetak A.A., Chaturvedi P.A., Desai N.S. 2014. Indian grape wines: a potential source of phenols, polyphenols, and antioxidants. *International Journal of Food Properties*. 17: 818-828.

Granato D., Katayama F.C.U. De Castro I.A. 2011. Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. *Food Chemistry*. 129: 366-373.

Heinonen I.M., Lehtonen P.J., Hopia A.I. 1998. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46:25-31.

Heras-Roger J., Pomposo-Medin, M., Díaz-Romero C., Darias-Martín J. 2014. Copigmentation, colour and antioxidant activity of single-cultivar red wines. *European Food Research and Technology*. 239: 1-7.

Kanner J., Frankel E., Granit R., German B., Kinsella J.E. 1994. Natural antioxidants in grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42:64-69.

Kennedy J.A. 2008. Grape and wine phenolics: observations and recent findings. *Ciencia e Investig. Agraria* 35: 77-90.

De la Cruz-de Aquino M.A., Martínez-Peniche R.A., Becerril-Román A.E., Chávaro-Ortiz M.S. 2012. Caracterización física y química de vinos tintos producidos en Querétaro. *Rev. Fitotec. Mex.* 35(5):61-67.

- Mildner-Szkudlarz S., Szwengiel A., Bajerska J., Obuchowski W., Remiszewski M. 2009. Phenolic compounds and antioxidant activity from wine-making wastes. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 55:511-5016.
- Pinho C., Couto A.I., Valentão P., Andrade P., Ferreira I.M.P.L.V.O. 2012. Assessing the anthocyanic composition of Port wines and musts and their free radical scavenging capacity. *Food Chemistry*. 131: 885-892.
- Rockenbach I.I., Rodrigues E., Gonzaga L.V., Caliari V., Genovese M.I., Goncalves A.E.D.S.S. 2011. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*. 127: 174-179.
- Rodríguez-Pérez C., Molina J.M., De La Serrana H.L. 2010. Relación entre las temperaturas máximas y los distintos parámetros de calidad en vinos. *Ars Pharmaceutica*. 51:31-39.
- Roussis Ioannis G., Lambropoulos I., Tzimas P., Gkouloti A., Vasilios M., Tsoupeis D. 2008. Antioxidant activities of some Greek wines and wine phenolic extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21:614-621.
- Santos L.P., Morais D.R., Souza N.E., Cottica S.M., Boroski M., Visentainer J.V. 2011. Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* grapes. *Food Research International*. 44: 1414-1418.
- Torres J.L., Varela B., García M.T., Carilla J., Matito C., Centelles J.J. 2002. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:7548-7555.
- Villaño D., Fernández-Pachón M.S., Troncoso A.M., García-Parrilla M.C. 2006. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines. *Food Chemistry*. 95:394-404.
- Yuwa-Amornpitak T., Koguchi M., Teramoto Y. 2012. Antioxidant activity of herbal wine made from cassava starch *World Applied Sciences Journal*. 16:874-878.

