

# SAPONIN-EMETA



ESCUELA AGROTECNICA EMETA  
SANTA CRUZ-TAFI DEL VALLE

Provincia: Tucumán

Nombre del Trabajo: Saponin – EMETA

Nivel: Medio

Área o Modalidad: Educación Técnico  
Profesional

Listado de alumnos que participaron en este Proyecto

5° Año:

DNI	Nombre
43709777	Cancino Cecilia Yamile:
41533737	Centeno Lucas Emanuel:
43566233	Chocobar Celeste Nicol:
44658966	Cruz Juan Ignacio
43566232	Gómez Aylen Fernanda
43291983	González Florencia Magali
43027562	Medina Zurita Marcos Tadeo
42664609	Molina Domingo Nicolás
43027570	Monasterio Nelson Antonio:
42938342	Perea Eliana Elizabeth
43775406	Roldan Fernanda Belén
43966125	Romano Julio Cesar

## Índice

Objetivos y Situación Problemática .....	Página 4
Fundamentación .....	Página 5
Resumen .....	Página 6
Cronograma de actividades.....	Página 7-8
Diagrama de Pert .....	Página 9
Acciones .....	Página 10
Conclusiones .....	Página 15
Proyección social.....	Página 16
Agradecimientos.....	Página 17
Registro Pedagógico .....	Página 18 - 20
Anexos.....	Página 21

## **1 – OBJETIVOS**

- Construir una red de trabajo comunitario con los productores de quínoa de la zona de influencia de la EMETA.
- Obtener productos derivados de las saponinas que puedan mejorar las prácticas agrícolas.
- Que los alumnos adquieran conocimientos desarrollando el manejo de éste cultivo y lo valoren como una posibilidad laboral en un futuro inmediato.
- Motivar a la comunidad a producir de manera orgánica y sustentable priorizando el cuidado del medio ambiente.

## **2 - SITUACION PROBLEMÁTICA**

¿El agua del lavado de los granos de quínoa, servirá para ser utilizada como coadyuvante orgánico en aplicaciones Agrícolas?

## **3- ALTERNATIVAS DE SOLUCION**

- Realizar investigaciones sobre las propiedades deterativas del agua del lavado de quínoa
- Realizar ensayos con las aguas del lavado de quínoa en laboratorio
- Realizar ensayos a campo con distintas soluciones

De estas alternativas se elegirá la más adecuada para obtener las características del agua de lavado de la quínoa y determinar si servirá como Coadyuvante Agrícola Orgánico.



La quínoa es un cultivo autóctono que adquirió importancia mundial debido a su gran valor nutricional. Se usa como alimento, ya que presenta todos los aminoácidos esenciales que necesita el ser humano.

En nuestra zona la producción es a baja escala, con vistas a seguir creciendo. Se comenzó a cultivar como forma de diversificar los cultivos que se realizan de manera tradicional.

La escuela EMETA produce parcelas de ensayo, estudiando los estadios fenológicos y/o características del cultivo, determinando fertilización, fechas de siembra, cosecha, variedades más adecuadas, usos, etc. Ya se realizó extensión a la comunidad de algunos resultados, los cuales están siendo aplicados por los pequeños productores.

La quínoa para consumo humano debe ser lavada para eliminar de los granos las saponinas que son sustancias tóxicas para el organismo, porque interfieren en el sistema digestivo, también tienen la capacidad de romper la membrana de las células produciendo una acción hemolítica en los glóbulos rojos.

Las saponinas (del latín sapo: jabón) son llamadas así por sus propiedades semejantes a las del jabón, y forman espuma cuando se las agita en agua. Entonces en esta propiedad vemos la posibilidad de utilizar las aguas de lavado como "coadyuvante" orgánico, en la aplicación de productos agrícolas en los cultivos.

Además, al ser una sustancia de origen orgánico nos permite poner en primer lugar el cuidado del medio ambiente, minimizando el impacto ambiental al momento de ser aplicado, considerando el cuidado del suelo, el aire y el agua, en el lugar donde se realizan las aplicaciones de productos agrícolas.

#### **Fundamentación.**

cultivo ancestral  
actualmente  
importancia  
a su gran valor  
usa como grano  
que presenta  
aminoácidos  
necesita el ser

la producción es

También se puede considerar una opción más para la producción de la zona, formando parte de un abanico de posibilidades rentables y laborales para productores y alumnos que se dedican a las actividades de campo.

## **RESUMEN**

La Escuela Agrotécnica Emeta desarrolla, entre otras actividades, el cultivo de la quinua, con el objetivo de recuperar este cultivo andino ya que pertenecía a las actividades agrícolas de los pueblos originarios del valle.

Este pseudo-cereal es cultivado por los productores de la zona, y dentro de un convenio interinstitucional, reciben asesoramiento y asistencia técnica de la escuela.

Este proyecto se genera con la intención de agregar valor al producto que se obtiene en común. Las saponinas, que son solubles en agua, se obtienen del lavado de la quinua para consumo humano, poseen una propiedad de carácter detergente, lo que motivó a investigar y ensayar la posibilidad de utilizar esta agua de lavado, como coadyuvante en las aplicaciones de productos agrícolas.

Considerando ésta propiedad y comparando con productos coadyuvantes de origen comercial, comenzó esta investigación, y se realizaron ensayos de campo para comprobar la hipótesis planteada.

La Cooperativa El Takellar (productores de la zona) provee de las aguas de lavado para realizar los ensayos. Siendo la primera dificultad determinar la concentración de saponina y la segunda, la dosificación a utilizar en las aplicaciones de campo.

Para superar estas dificultades acudimos a la Facultad de Química Bioquímica y Farmacia (UNT) , quienes brindaron el asesoramiento para poder determinar la concentración. Se realizaron distintos ensayos de pruebas en el laboratorio de la institución y se fueron registrando los resultados obtenidos. Así se podrá comparar y investigar cual es la dosificación conveniente.

También se registraron imágenes de “una gota” en distintas condiciones para comprobar la tensión superficial del líquido y evaluar las posibilidades de utilizarlo como coadyuvante.

Se acudió a la Esc. Agrotécnica Los Sarmientos para utilizar el laboratorio y los equipos de alta tecnología con el objeto de conseguir imágenes que fundamenten este proyecto. Los alumnos de

<b>Referencia</b>	<b>Actividad</b>	<b>Desarrollo</b>	<b>Tiempo Optimista</b>	<b>Tiempo Logrado</b>
-------------------	------------------	-------------------	-------------------------	-----------------------

ambas instituciones intercambiaron inquietudes y experiencias en una jornada de trabajo entre las dos escuelas.

Los ensayos de campo se realizaron en parcelas marcadas y se registran los resultados obtenidos. Destacando que la superficie de mojado, la mayor pulverización y el tiempo de contacto del producto agroquímico con solución de saponina, son los parámetros a comparar con el producto comercial.

Se debe tener en cuenta que la solución de saponina es de origen orgánico, entonces disminuye notablemente el impacto ambiental al ser utilizada, preservando el medio en el que es aplicada, brindando la posibilidad de mayor cuidado del suelo, el aire y el agua.

Actualmente el proyecto se encuentra en la etapa de aplicación e investigación y se registran los resultados obtenidos.

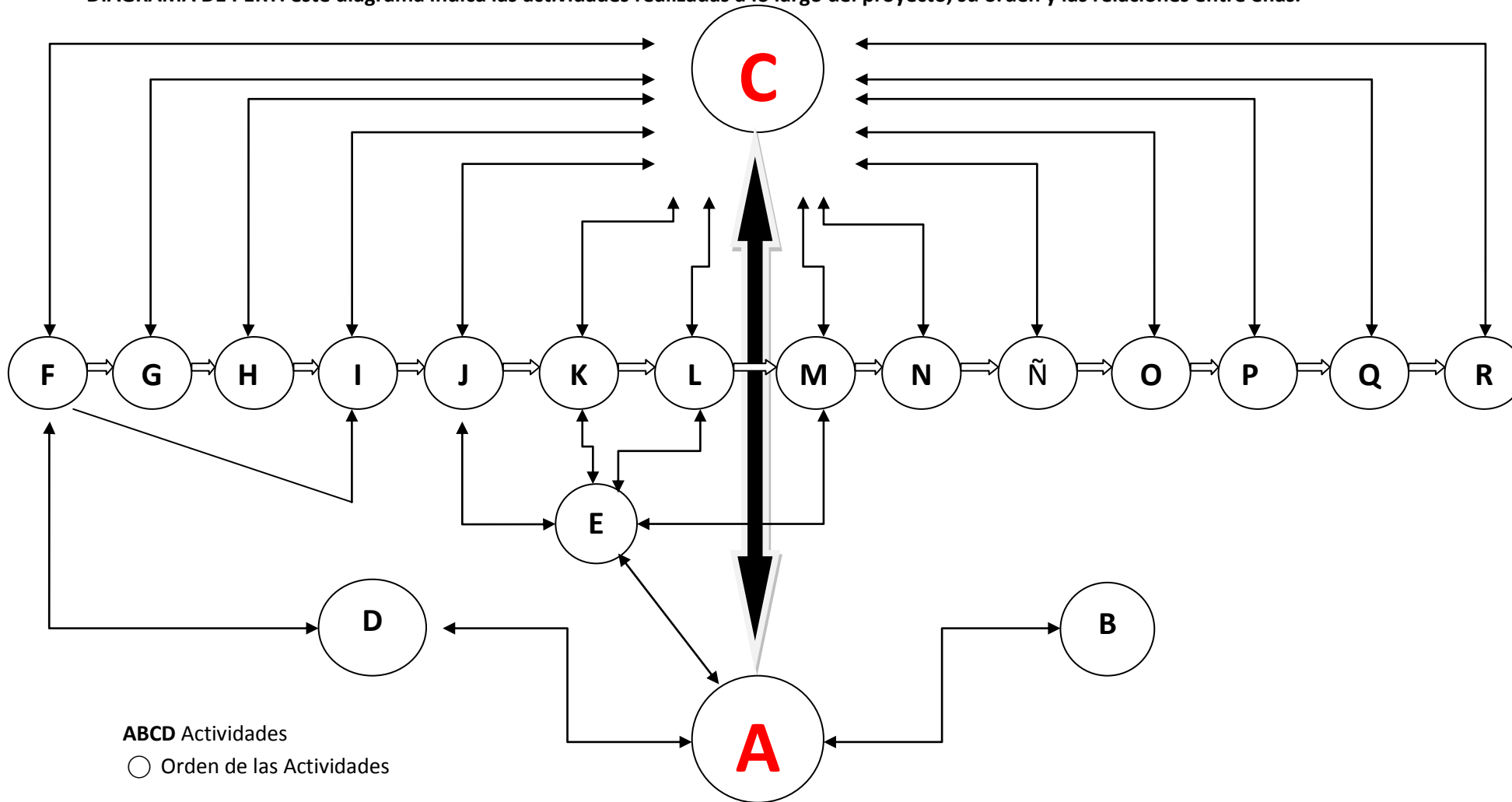
<b>A</b>	Planteamiento del proyecto	Marzo de 2016	5 días	7 días
B	Selección del tema a trabajar (Biogas, aromáticas y saponinas)	Mayo de 2016	2 días	3 días
<b>C</b>	Actividades áulicas (Investigaciones, relaciones, debates, entrevistas, cálculos, aplicaciones)	Mayo de 2016 a Julio de 2017	156 días aprox. (un periodo lectivo y medio: abril 2017 a Julio 2017)	220 días
D	Prácticas de Campo (siembra y manejo del cultivo de Quínoa. Cosecha)	Nov-may 2016-2017	180 días	180 días
E	Extensión y creación de redes de trabajo: (instituciones-escuela-productores)	Julio-agosto Sept-oct 2016	10 días	30 días
F	Extracción de la saponina de la quínoa (coop Takellar)	Abril 2017	1 día	2 días
G	Registro fotográfico	Abril-may- junio-julio	10 días	10 días
H	Trabajo en el laboratorio escolar	Marzo-abril- may junio-julio	3hs cátedras semanales	
I	Observación de las características de la sapo-quínoa		Hs cátedras	
J	Conv. con Fac. de Bioquímica (asesoramiento y uso de instrumental de laboratorio)	Abril-may junio	5 días	7 días
K	Conv. con Coop el Takellar (extracción de muestras de su cultivar)	May-jun 2017	5 días	
L	Act. Ficticia			
M	Intercambio de visitas con charlas informativas	Jun-agos oct-nov mar-abr 2016-2017	5 días	
N	Determinación de la concentración de la sapo-quínoa	Abril	1 día	
N	Conv. Con Esc. Los Sarmientos (instrumental de laboratorio)	Mayo	1 día	
O	Determinación de la tensión superficial o poder detergente (Fotografía)	Mayo	2 días	

**CRONOGRAMAS DE ACTIVIDADES**



Referencias	Actividad	Desarrollo	Tiempo Optimista	Tiempo Logrado
P	Aplicación a campo de datos obtenidos	Junio	2 días	
Q	Preparación de diferentes dosis	Junio	1 día	
R	Aplicación en cultivos de las DOSIS OBTENIDAS (ciper-rino, ciper-agua, ciper-Sapo)	Julio	2 días	
S	Determinación de Adherencia en diferentes cultivos (fotografías y comparaciones)	Julio	2 días	
T	Ensayos de Aplicaciones	<b>Estamos en esta instancia</b>	10 días	
	Estandarización de la extracción de Saponina según la variedad de quínoa			
	Determinación del poder detergente de la Sapo-quínoa			
	Concentrar la Saponina			
	Obtener dosis de aplicación con dosis concentrada			
	Determinar toxicidad-residualidad			
	Encontrar conservantes de la saponina			
	Contactarse con un organismo certificador			

DIAGRAMA DE PERT: este diagrama indica las actividades realizadas a lo largo del proyecto, su orden y las relaciones entre ellas.



## ACCIONES

1) La primera acción fue demostrar el poder detergente, y la disminución casi total de la tensión superficial de una gota en diferentes condiciones.

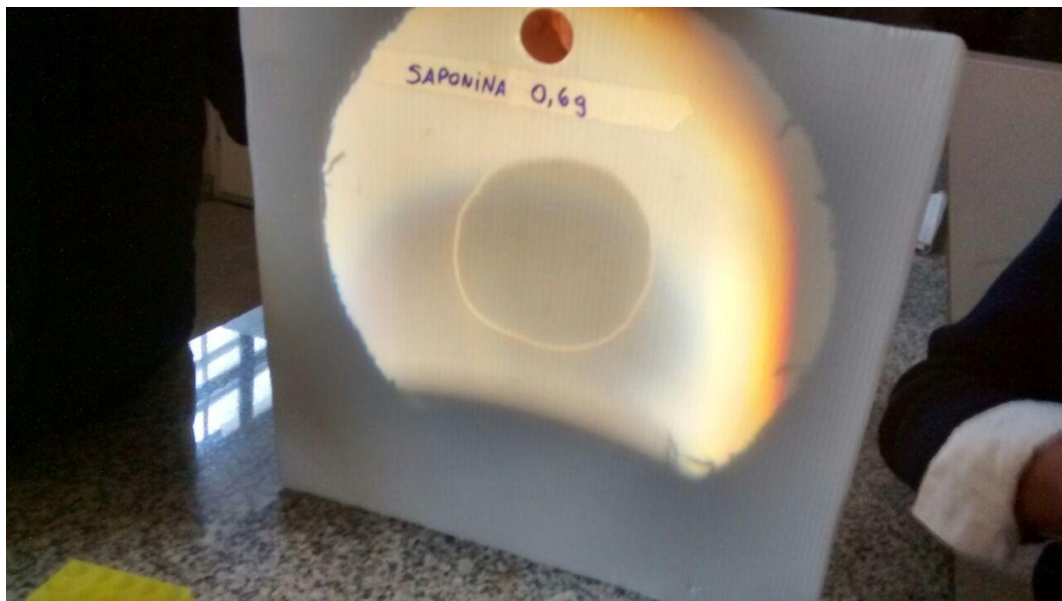
A) una gota de agua.

B) una gota de agua con detergente.

C) Una gota de solución de saponina.

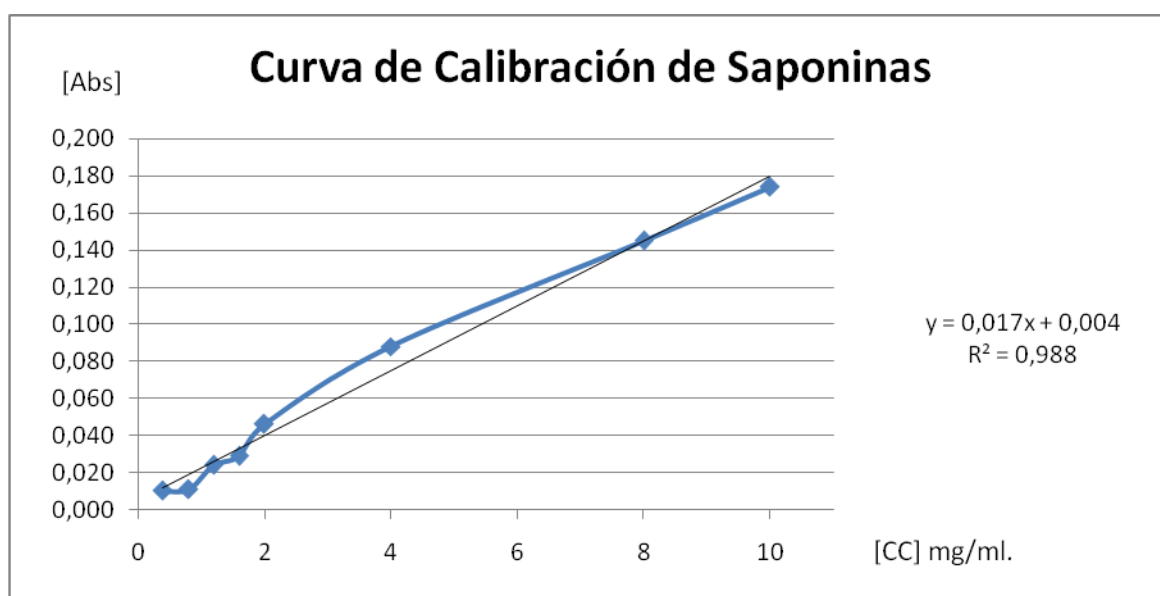
Como no disponíamos de una cámara adaptada al microscopio acudimos a la Esc. Agrotécnica Los Sarmientos para utilizar el laboratorio y los equipos de alta tecnología con el objeto de **conseguir imágenes que fundamenten nuestra hipótesis**. Luego de varios ensayos y variando la concentración (según los gr de quinoa utilizados en una determinada cantidad de agua), preparamos una solución diluida (0,6g en 50ml), una solución intermedia (5g en 50ml) y una solución concentrada(10g en 50ml), logramos las imágenes buscadas en las que se puede observar **la disminución de la tensión superficial**.

Los alumnos de ambas instituciones **intercambiamos proyectos, inquietudes y experiencias** en una jornada de trabajo y camaradería entre las dos escuelas.



2) La segunda dificultad que se nos presentó fue determinar **la concentración de saponina adecuada** para hacer la aplicación correspondiente. Entonces, consultamos con la UNT (Facultad de Química Bioquímica y Farmacia), con la Dra Alejandra Moyano quién nos atendió en el laboratorio donde realiza sus investigaciones sobre quinoa, pero desde el punto de vista nutricional.

Llevamos a la facultad una muestra de lavado que nos facilitó un productor (Walther García) de la Cooperativa el Takellar. Y en el laboratorio preparamos distintas soluciones para hacer la lectura en el **cromatógrafo ( que a través de un haz de luz que atraviesa la solución determina la concentración buscada, aplicando la ley de Lambert y Beer)**. Esta ley relaciona la absorción de luz con las propiedades del material atravesado. Explica que hay una relación exponencial entre la transmisión de luz a través de una sustancia y la concentración de la sustancia. Si conocemos l(longitud atravesada por la luz en el medio) y el coeficiente de absorción, la concentración de la sustancia puede ser deducida a partir de la cantidad de luz transmitida. Lecturas que se hizo en el espectrofotómetro de la UNT. Lo que nos permitió realizar una curva de calibración de saponinas en agua.



Estándar de saponinas en agua

CURVA DE SAPONINAS	
CONCENTRACION	ABSORBANCIA
0,4	0,010
0,8	0,011
1,2	0,024
1,6	0,029
2	0,046
4	0,088
8	0,145
10	0,174



De ésta manera ya podemos preparar las soluciones de saponina para hacer los ensayos de campo.

La dra Moyano y su equipo decidieron visitar la escuela y la cooperativa para dialogar con los productores, observar la sanidad de las plantas, y obtener material de trabajo para investigación.

3) Después de determinar la concentración empezamos a preparar las soluciones para aplicar en las parcelas determinadas para ensayo. Los cálculos fueron hechos de la siguiente manera:

Dosis:

### **SAPO-QUINOA**

Dilución: 50gr.sem/100cc H<sub>2</sub>O

Dosis=10cc **SQ**/10 lt H<sub>2</sub>O

10lt H<sub>2</sub>O \_\_\_\_\_ 10cc **SQ**

1lt H<sub>2</sub>O \_\_\_\_\_ X

X=  $\frac{1000\text{cc H}_2\text{O} \times 10\text{cc } \mathbf{SQ}}{10000\text{cc H}_2\text{O}}$

10000cc H<sub>2</sub>O

X= 1cc **SQ**/lt H<sub>2</sub>O

### **RINO**

Dosis= 20cc/100lt H<sub>2</sub>O

100lt H<sub>2</sub>O \_\_\_\_\_ 20cc **R**

1 lt H<sub>2</sub>O \_\_\_\_\_ X

X=  $\frac{1000\text{cc H}_2\text{O} \times 20\text{cc } \mathbf{R}}{10000\text{cc H}_2\text{O}}$

10000cc H<sub>2</sub>O

X=  $\frac{2\text{cc } \mathbf{R}}{10\text{cc H}_2\text{O}} = 0,2\text{cc } \mathbf{R}/\text{lt H}_2\text{O}$

10cc H<sub>2</sub>O

### **CIPERMETRINA**

Dosis= 10cc/20lt H<sub>2</sub>O

20lt H<sub>2</sub>O \_\_\_\_\_ 10cc **Cip**

1lt H<sub>2</sub>O \_\_\_\_\_ X

X=  $\frac{100\text{cc H}_2\text{O} \times 10\text{cc } \mathbf{Cip}}{20000\text{cc H}_2\text{O}}$

20000cc H<sub>2</sub>O

X=  $\frac{1\text{cc } \mathbf{Cip}}{2\text{cc H}_2\text{O}} = 0,5\text{cc } \mathbf{Cip}/ 1\text{lt H}_2\text{O}$

2cc H<sub>2</sub>O

Una vez preparadas las soluciones, tuvimos que determinar en qué cultivos se llevaría a cabo la experiencia, para ello nos pusimos en contacto con un productor de papa de la localidad de los Sarmientos, quien amablemente nos permitió visitar su finca para poder realizar las aplicaciones de los productos preparados, y tomar fotos de las gotas para verificar la diferencia que hay entre una y otra (ciper sola, ciper y Rino, ciper y sapo). También realizamos la aplicación en plantaciones de zapallo y en ajo que tiene nuestra escuela. Se sacaron las fotos y se lograron algunas tomas, en las que se observa mayor superficie de contacto del producto, mayor humectación y menor tamaño de la gota.

Actualmente estamos recibiendo el apoyo y capacitación de la Cátedra de Garantía de Calidad de Drogas y Medicamentos en la técnica a utilizar reconocida a nivel internacional. Es una técnica validada (linealidad, especificidad, selectividad, precisión, exactitud y robustez) por ICH (Comité Internacional de Armonización Química)

Para ello primero se aplicó Estudio de Regresión por cuadrados mínimos para la curva de calibración.

Y para encontrar la concentración a recomendar a los productores y en nuestras aplicaciones: sobre 15 muestras estamos aplicando RSD (Desviación Estándar Relativa) aproximando el mejor valor será



el que se aproxime a 0.

A partir de ahora, nuestra escuela y la cooperativa intercambian el agua de lavado por el “coadyuvante Orgánico Saponin Emeta”, en un convenio de apoyo entre ambas instituciones, para mejorar las prácticas agrícolas, abaratar costos reutilizar las aguas de lavado, cuidando nuestro medio ambiente y apoyándonos entre ambas instituciones que pertenecen a la misma comunidad.

## CONCLUSIONES:

- Las redes de trabajo entre instituciones que pertenecen a la misma comunidad, valora las relaciones interpersonales, generando oportunidades de intercambio de conocimiento formal y no formal que se transmite de generación en generación.
- Las saponinas, por tener propiedades deterativas, disminuyen la tensión superficial, aumentando la superficie de mojado, potenciando el efecto mojante de cada gota pulverizada, actúa como moderador del lavado por lluvia o riego aumentando la adherencia del producto.
- Las sustancias de origen orgánico comparadas con las industriales son menos impactantes en los ecosistemas y ambientes naturales.





### **PROYECCION SOCIAL:**

La recuperación de éste cultivo andino en los productores del valle permitiría aumentar las posibilidad de oportunidades económicas y con mayor razón si el valor agregado de la quinoa abre un abanico de subproductos que se pueden obtener aprovechando sus bondades como nutriente, como coadyuvante , y en la fabricación de productos de higiene personal como ser jabones, champues, y detergentes.-

### **AGRADECIMIENTOS:**

Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Cátedra de Garantía de Calidad de Drogas y Medicamentos de UNT.

Dra. Alejandra Moyano, UNT.

Biotechnóloga: Iris Soto, Escuela Agrotécnica Los Sarmientos.

Sr. Walther García: Cooperativa El Takellar.

Ingeniero Agrónomo; Luis Moreno

Profesoras: Cinthya Soria, Elsa Zurita.

Técnicos Informáticos: Cancino Adrián, Armella Ignacio

Productor de papa de Los Sarmientos: Sr: Mauricio Preliz

## **Registro Pedagógico del proyecto: “saponin-emeta”**

Esta experiencia educativa la llevan a cabo alumnos de 5° año pero en realidad ya viene enfocada desde el periodo lectivo anterior, en la que interviene casi todo el curso. Este proyecto inicia desde el área curricular de química y de manera simultánea con el área de Horticultura, pensando en una actividad que relacionara ambas asignaturas y las conectara para conseguir la aplicación de datos obtenidos en laboratorio en un espacio real y diario como es el campo en la producción hortícola. Además otras áreas se involucraron directamente como ser matemática, física, lengua, historia y otras materias de campo en las que los alumnos desarrollan actividades agrícolas de cultivos (horticultura, edafología, climatología, terapéutica, etc) en éste caso de la quínoa. De esta manera se consiguió la transversalidad entre las diferentes materias, abordando la misma temática simultáneamente, y que es tan importante a la hora de conseguir un aprendizaje significativo,

La articulación entre matemática, física y química es muy importante desde el punto de vista de la simultaneidad de los temas necesarios para: en el caso de matemática los cálculos y planteos al preparar la dosificación del producto a aplicar y la interpretación de gráficos cartesianos con dos variables, en el caso de física recurrir a los conocimientos previos sobre fuerza y tensión superficial en un líquido, que tuvieron que demostrar como fenómeno físico y comprobar como hipótesis planteada. Y en el caso de química la destreza adquirida en el preparado de soluciones, en el reconocimiento del material a utilizar, inclusive cuando se hizo la visita a los laboratorios de la UNT, los alumnos se desempeñaron con seguridad y autonomía.

Desde historia se investigó este cultivo que ya era conocido por los abuelos de la zona del valle y se consideraron sus conocimientos al respecto; los alumnos trabajaron en una línea de tiempo en la que utilizaron el programa Open Office Draw (sistema operativo Huayra) . Desde lengua se trabajó la oralidad, la realización de resúmenes y síntesis de la información obtenida durante la investigación.

A inicio de este año escolar, se retomo el diálogo con los alumnos en el que se resaltaban sus intereses y se volvieron a plantear las temáticas que a ellos les interesaba investigar y quedaron tres: 1) biogás, 2) aromáticas y 3) saponinas.

De las tres se realizaron prácticas sencillas de experiencias en el laboratorio pero la que mayor fuerza adquirió fue la que involucraba a los granos de quínoa, porque es un cultivo que se realiza en el establecimiento en donde los alumnos participan de todo el manejo, además se vienen realizando trabajos de investigación con respecto a sus características y uso. Ellos comentaron la existencia de la Cooperativa El Takellar que nuclea a los productores de la zona y después de una visita técnica a la misma y algunos acuerdos entre ambas instituciones, incluimos a la cooperativa en el proyecto de investigación (a través de un acta acuerdo)

Al inicio del año lectivo eran tres los alumnos interesados en seguir con el trabajo que se había iniciado el año anterior pero a medida que empezaron a movilizarse tuvimos que buscar ayuda a otras instituciones para poder comprobar y demostrar supuestos, así fue creciendo el entusiasmo y se sumaron alumnos aumentando el interés y participación en este trabajo de investigación.

Por supuesto que el hecho de trasladar los alumnos a los laboratorios de la UNT y a la Escuela Agrotécnica Los Sarmientos, y conocer otros lugares y personas generó mucha movilización entre ellos. Y muchas veces se pone difícil en el momento de “elegir” a quienes llevar o preparar para exponer porque casi todos quieren lucirse.

En éste “participar” tienen que superar la “vergüenza” de exponer que es algo que a la mayoría de los alumnos les cuesta. Van adquiriendo seguridad a medida que van confirmando, comprobando y aprendiendo sobre lo que están investigando.

Las visitas a otras instituciones como ser UNT, Agrotécnica Los Sarmientos, fueron realizadas en jornadas casi completas por la distancia y el tiempo que lleva poder ejecutar lo planificado. En ambos casos fueron con el objeto de que los alumnos aprendan a superar dificultades que se plantean por falta de equipamiento poder continuar con la investigación. Lo cual permitió formar redes de trabajo que fortalecen a las instituciones que intervienen en un intercambio de beneficios y comparar las investigaciones que se estaban realizando en una jornada de camaradería e intercambio.

El propósito pedagógico de éste proyecto va más allá de investigar sobre un producto secundario de la quínoa, la intención es que se abra el campo de posibilidades y los educandos evalúen todo lo que pueden hacer y aprender del producto de un cultivo conocidos por ellos. Además, está la proyección social que genera en la comunidad que rodea a la escuela, porque, muchos de ellos trabajan con sus padres y demás familia en cultivar sus tierras.

La seguridad que van consiguiendo a medida que avanzan, en la oralidad de los planteos, inclusive en las situaciones a resolver, es una competencia que llega para quedarse y ser utilizada en las situaciones futuras que se presenten.

Las prácticas organizadas tanto las de aplicación de campo como las prácticas de laboratorio fueron acordadas con los alumnos y analizadas en el primer trimestre del año escolar. Las actividades se realizaron en primera instancia en el laboratorio de la escuela, en el que, en muchas oportunidades, se resolvieron algunas situaciones, solo con lo que disponemos y a escala piloto. Una vez que los alumnos analizan los resultados obtenidos, recién pasamos a las prácticas de campo con los docentes específicos de esa área, pero ya con la experiencia previa que se adquirió a menor escala en el laboratorio.

Los alumnos aprenden que las dificultades se presentan y que hay que buscar diferentes alternativas superadoras. Que el trabajo en equipo permite opiniones

diferentes brindando la posibilidad de pensamientos diferentes que se deben consensuar y acordar el mejor, respetando a cada uno de los integrantes del equipo de trabajo. Además, de alguna manera, todos aportan, que organizarse es importante para que la tarea se realice en tiempo y forma y que al ser evaluados no deben ser situaciones de nerviosismo sino es la oportunidad de mostrar todo lo que hicieron entre todos.

En la planificación se realizaron algunos ajustes por necesidad de saltar el orden porque algunos conceptos eran necesarios para poder avanzar y vuelvo a recalcar que es muy valioso abordar el mismo tema desde distintas áreas de manera articulada y acordada para poder aportar al mismo objetivo.

Adjunto un párrafo escrito por una de las alumnas participantes.

**ANEXOS:**

- **Actas acuerdo entre instituciones:**
  - **Universidad Nacional de Tucumán y Escuela Agrotécnica EMETA Tafí del Valle**
  - **Cooperativa El Takellar y Escuela Agrotécnica EMETA Tafí del Valle**
  - **Escuela Agrotécnica Los Sarmientos y Escuela Agrotécnica EMETA Tafí del Valle**
  
- **Técnica de estandarización de saponinas.**
  
- **Cálculo de Desviación Estandar Relativo de la concentración adecuada.**

Provincia: Tucumán

Nombre del Trabajo:

“Saponin – EMETA”

Nivel: SECUNDARIA

Modalidad:

Educación Técnico Profesional –  
ETP - B 2