

3.1.- DISEÑO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACION

3.1.1.- Universo y muestra:

El universo de estudio esta dado por la población de Santa Filomena, que asciende a 320 habitantes, siendo la variable principal de estudio CONTINUA “Niveles de Hg en orina de 24 horas” y la población señalada FINITA al que se aplicó la siguiente formula para hallar el número de muestra:

$$n = \frac{\left(\frac{z s}{e \bar{x}}\right)^2}{1 + \frac{1}{N} \left(\frac{z s}{e \bar{x}}\right)^2}$$

Donde:

z : confiabilidad muestral	Considerada en 95%
e: error relativo	Considerado en 10 %
x : media	2.2
s : desviación estándar muestral	0.637302005
N: tamaño poblacional	320
n: tamaño de muestra	mínimo 29

Los valores de “x” y “s” respectivamente se obtuvieron de la prueba piloto realizada en el año 1998 en la Comunidad Minero Artesanal de Huanca, distrito de Santa Lucía, departamento de Ayacucho, de similares características y aplicada en iguales condiciones.

Aplicando los valores del piloto a la población de Santa Filomena y considerando una confiabilidad muestral de 95% y un error relativo de 10% el tamaño de la muestra poblacional se obtuvo reemplazando los datos en la formula:

$$n = 29$$

De lo que se desprende que la selección de 31 muestras es estadísticamente correcta, confiable y aceptable.

3.1.2.- Métodos e instrumentos para la recolección de datos:

El trabajo utilizará los siguientes instrumentos de recolección de información :

- Cuestionario estructurado (encuesta)

Encuesta que nos permitió conocer los aspectos generales de la población en estudio, edad, sexo, tiempo de exposición, (Anexo N° 1)

- Análisis cuantitativo.

El dosaje de mercurio en muestras de orina en 24 horas.

- Lista de chequeo .

Se verifica la aplicación de pasos a seguir en la colecta, tratamiento y transporte de la muestra. (Anexo N°5)

- Guía de pasos para manipulación de muestras de mercurio en zonas rurales.

(Anexo N° 3)

3.1.3.- Procedimientos:

- Tramites de autorización de la población.
- Firma de la autorización de consentimiento por la población informada sujeto de estudio.
- Aplicación del cuestionario
- Colección de la muestras
- Aplicación de la lista de chequeo
- Lectura de muestras

3.1.1.- Parte experimental:

- Metodología y análisis
- Toma de muestra
- Tratamiento de la muestra
- Traslado
- Método a utilizar

3.1.4.- Plan de tabulación y análisis:

Para la tabulación de los resultados se utilizó el paloteo (medios mecánicos) , y para el análisis de los resultados los instrumentos de la estadística descriptiva (porcentajes).

3.1.5.- Informe final

Los datos se presentan en cuadros y gráficos que permiten la exposición clara y didáctica de los resultados hallados mediante la presente investigación.

3.2.- MATERIAL Y TECNICA OPERATORIA

3.2.1.- DETERMINACIÓN DE MERCURIO EN ORINA

3.2.1.1.- Método Utilizado: Espectrofotometría de Absorción Atómica por Generación de Hidruros en Frío.

3.2.1.2.- Fundamento:

Cuando la solución de Borohidruro de Sodio es utilizada como reductante. La reacción violenta y la liberación de hidrógeno ayuda a la descarga del mercurio metálico de la solución y éste a su vez es transportado por una corriente de Nitrógeno como vapor de mercurio a las celdas de cuarzo.

3.2.1.3.- Parámetros de Operación:

Elemento	Mercurio
Fuente	EDL Lámpara de Descarga Energética
<i>Longitud de Onda (nm)</i>	253.6
<i>Abertura (nm)</i>	0.7
Corrección Background	No
Reductante	3% NaBH ₄ en 1% NaOH
Flama	No

3.2.1.4.- Reactivos:

- H₂SO₄ grado analítico
- HNO₃ grado analítico
- Solución de KMnO₄ al 5%
- Borohidruro de Sodio
- Hidróxido de Sodio
- Agua desionizada

3.2.2.- CONDICIONES OPTIMAS PARA EL ANALISIS DE MERCURIO

3.2.2.1.- Utilizando NaBH₄ como reductante

- SOLUCIÓN STOCK: Contiene 1000 µg/ml Hg.
- SOLUCIÓN ESTÁNDAR: 1 µg Hg/ml (en 1.5% HNO₃, estabilizada con la adición de unas gotas de KMnO₄ al 5 %)
 - Alícuotas para Calibración: 100, 200, 500 µL. Correspondientes a: 100, 200, 500 ng Hg.
 - Diluyente: HCl o HNO₃ al 1.5%
 - Volumen de calibración: 10 ml
- REDUCTANTE: NaBH₄ al 3% en NaOH al 1%

3.2.2.2.- Interferencias:

Si se produce espuma, se añade 0.5 ml – 1.0 de Tributil Fosfato (agente antiespumante)

3.2.2.3.- Solución Estándar:

1 µg Hg/ml (en mezcla ácida 1.5% de HNO₃, 1.5% H₂SO₄ con la adición de 5 gotas de solución de KMnO₄ al 5%).

3.2.3.- Equipo:

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer 3300 con Sistema de Generación de Vapor Frío MHS – 10.

- SENSIBILIDAD: 4.60 ng Hg 1% Absorbancia
- VERIFICACIÓN DE LA SENSIBILIDAD: 10 ml de 0.025 $\mu\text{g/ml}$ Hg (250 ng) dan una absorbancia de aproximadamente 0.2.

3.2.4.- Volumen de Muestra a preparar: 10 ml

3.3.- METODO OPERATORIO:

La curva de calibración es establecida por volúmenes de la solución estándar correspondientes a 0.02 μg , 0.05 μg y 0.1 μg Hg en 10 ml de mezcla ácida (1.5% del HNO_3 , 1.5% H_2SO_4).

1 ml de la alícuota de la muestra es dispensada en el frasco de reacción, al que se añade 5 gotas de la solución de KMnO_4 al 5%, se mezcla bien y se añade 9 ml de la mezcla ácida (1.5% de HNO_3 , 1.5% H_2SO_4). (028)