



**UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI W KRAKOWIE**  
**WYDZIAŁ CHEMII**

**Dr Renata Wietecha-Posłuszny**

**Innowacyjne metody izolacji substancji psychoaktywnych  
z materiałów biologicznych dla potrzeb analityki  
toksykologiczno-sądowej**

Autoreferat przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych  
w związku z ubieganiem się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Kraków 2018

**Spis treści**

1.	Dane personalne.....	3
2.	Informacje o posiadanych dyplomach i uzyskanych stopniach naukowych.....	3
3.	Informacje o dotychczasowym zatrudnianiu w jednostkach naukowych.....	3
4.	Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz. u. nr 65, poz. 595 ze zm.).....	4
4.1.	Tytuł osiągnięcia naukowego.....	4
4.2.	Publikacje tworzące jednotematyczny cykl publikacji, opublikowane w czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports.....	4
4.3.	Omówienie celu naukowego przedłożonych publikacji oraz najważniejszych wyników.....	6
5.	Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.....	33
5.1.	Podsumowanie dorobku naukowego.....	33
5.2.	Publikacje stanowiące dorobek naukowy (poza cyklem publikacji wymienionym w punkcie 4.2), po uzyskaniu stopnia doktora, opublikowane w czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports.....	33
5.2.1	Proceedings w wydaniach konferencyjnych czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports po uzyskaniu stopnia doktora.....	38
5.2.2	Publikacje inne niż z listy czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports po uzyskaniu stopnia doktora.....	38
5.3.	Publikacje stanowiące dorobek naukowy (poza cyklem publikacji wymienionym w punkcie 4.2) przed uzyskaniem stopnia doktora, opublikowane w czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports.....	40
5.3.1	Proceedings w wydaniach konferencyjnych czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports przed uzyskaniem stopnia doktora.....	40
5.3.2	Publikacje inne niż z listy czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports przed uzyskaniem stopnia doktora.....	41
5.4.	Rozdziały w książkach lub monografiach.....	42
6.	Udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych.....	44
7.	Publikacje w recenzowanych materiałach konferencyjnych o zasięgu międzynarodowym.....	54
8.	Przewodniczenie obradom konferencyjnym oraz członkostwo w komitetach naukowych.....	55
9.	Organizacja konferencji naukowych krajowych i zagranicznych na UJ.....	55
10.	Opieka i promotorstwo nad pracami magisterskimi realizowanymi na UJ.....	55
10.1.	Opieka nad pracą magisterską.....	56
10.2.	Promotor prac magisterskich.....	56
10.3.	Recenzje pozostałych prac magisterskich.....	57
10.4.	Opieka nad pracami licencjackimi.....	57
10.5.	Opieka nad miniprojektami realizowanymi na UJ.....	58
10.6.	Opieka nad studentami indywidualnymi z Wydziału Chemii UJ.....	58
11.	Opieka i współpraca w ramach prac doktorskich.....	59
12.	Realizowane projekty badawcze.....	59
13.	Stáže krajowe i zagraniczne, szkolenia.....	60
14.	Działalność dydaktyczna na rzecz Wydziału Chemii UJ.....	61
15.	Prowadzone zajęcia dydaktyczne.....	63
16.	Działalność organizacyjna na rzecz Wydziału Chemii UJ.....	63

## 1. Dane personalne

---

**Imię i nazwisko:** Renata Wietecha-Posłuszny  
**Data i miejsce urodzenia:** 19 października 1976 r., Dębica  
**Stopień naukowy:** doktor nauk chemicznych  
**Telefon służbowy:** 12 663 20 84  
**e-mail:** wietecha@chemia.uj.edu.pl  
**Narodowość:** polska

## 2. Informacje o posiadanych dyplomach i uzyskanych stopniach naukowych

---

**Doktor nauk chemicznych:** Kraków, 2004 r.

Tytuł rozprawy doktorskiej: *„Metoda oznaczania selenu i arsenu w materiałach biologicznych techniką atomowej spektrometrii fluorescencyjnej z generacją wodorków”*

Promotor: prof. dr hab. Paweł Kościelniak

**Magister chemii:** Kraków, 2000 r.

Tytuł pracy magisterskiej: *„Oznaczanie alkaloidów opium we włosach narkomanów objętych programem metadonowym z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas”*

26.02.2001 - Nagroda Dra. Jana Zygmunta Robla za najlepszą pracę magisterską z dziedziny nauk sądowych

Promotor: prof. dr hab. Paweł Kościelniak (UJ), dr Roman Stanaszek (IES Kraków)

## 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnianiu w jednostkach naukowych

---

Miejsce zatrudnienia: Uniwersytet Jagielloński w Krakowie (UJ), Wydział Chemii, Zakład Chemii Analitycznej, Zespół Analitycznych Technik Przepływowych, Pracownia Chemii Sądowej, ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków

Zajmowane stanowiska:

październik 2008 – do chwili obecnej adiunkt, Wydział Chemii, UJ

październik 2004 – wrzesień 2008 asystent, Wydział Chemii, UJ

październik 2000 – wrzesień 2004 doktorant, Wydział Chemii, UJ

ponadto:

1996-2000 - Studium Pedagogiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego

1999-2000 - Studium Zarządzania i Biznesu przy Zakładzie Ekonomii Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego

Kierowanie Panelem Chemia Sądowa i Konserwatorska 2015/2016

Kierowanie Panelem Chemia Sądowa 206/2017

#### 4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz. u. nr 65, poz. 595 ze zm.)

##### 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Innowacyjne metody izolacji substancji psychoaktywnych z materiałów biologicznych dla potrzeb analityki toksykologiczno-sądowej

##### 4.2. Publikacje tworzące jednotematyczny cykl publikacji, opublikowane w czasopismach z bazy Journal Citation Reports

\* – autorstwo korespondencyjne habilitantki,  
 IF – podano wg JCR bieżący (podano IF średni pięcioletni)  
 cyt. = liczba cytowań wg WoS z dn. 29.12.2017

H1	<p>M. Woźniakiewicz, <b>R. Wietecha-Posłuszny*</b>, A. Garbacik, P. Kościelniak</p> <p>Microwave-assisted extraction of tricyclic antidepressants from human serum followed by high performance liquid chromatography determination</p> <p><i>Journal of Chromatography A</i>, 1190, 52-56 (2008)</p> <p><b>Lista MNiSW: 40, IF= 3,981; (4,008); cyt. 34</b></p> <p>Udział własny: 55%; koncepcja badań, zaplanowanie i zoptymalizowanie metody rozdzielania analitów metodą HPLC, opracowanie metody ekstrakcji MAE, interpretacja wyników, opracowanie tekstu publikacji, korespondencja z edytorem i recenzentami.</p>
H2	<p><b>R. Wietecha-Posłuszny*</b>, A. Garbacik, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak</p> <p>Microwave-assisted hydrolysis and extraction of tricyclic antidepressants from human hair</p> <p><i>Analytical and Bioanalytical Chemistry</i>, 399, 3233–3240 (2011)</p> <p><b>Lista MNiSW: 35, IF = 3,431; (3,57); cyt. 7</b></p> <p>Udział własny: 55%; koncepcja badań, zaplanowanie i opracowanie warunków hydrolizy analitów z matrycy włosa, opracowanie parametrów ekstrakcji MAE, interpretacja wyników, sporządzenie rysunków, opracowanie tekstu publikacji, korespondencja z edytorem i recenzentami.</p>
H3	<p><b>R. Wietecha-Posłuszny*</b>, A. Garbacik, M. Woźniakiewicz, A. Moos, M. Wieczorek, P. Kościelniak</p> <p>Application of microextraction by packed sorbent to isolation of psychotropic drugs from human serum</p> <p><i>Analytical and Bioanalytical Chemistry</i>, 402, 2249-2257 (2012)</p> <p><b>Lista MNiSW: 35, IF = 3,431; (3,57); cyt. 10</b></p> <p>Udział własny: 55%; koncepcja badań, zaplanowanie i opracowanie warunków oraz wybór optymalnych sorbentów do ekstrakcji, opracowanie parametrów izolacji matrycy z próbek surowicy, interpretacja wyników, sporządzenie</p>

wybranych rycin i tabel, opracowanie tekstu publikacji, korespondencja z edytorem i recenzentami.

---

**R. Wietecha-Posluszny**, M. Woźniakiewicz, A. Garbacik, P. Chęsy, P. Kościelniak

H4 Application of microwave irradiation to fast and efficient isolation of benzodiazepines from human hair

*Journal of Chromatography A*, 1278, 22-28 (2013)

**Lista MNiSW: 40, IF=3,981; (4,008); cyt. 11**

Udział własny: 60%; opracowanie koncepcji oraz zaplanowanie badań, przygotowanie próbek materiału biologicznego (włosów) do ekstrakcji mikrofalowej, opracowanie warunków oraz wybór optymalnych parametrów temperaturowych i chemicznych, interpretacja wyników, sporządzenie wybranych rycin i tabel, opracowanie tekstu publikacji, opracowanie odpowiedzi na pytania recenzentów.

---

M. Woźniakiewicz, **R. Wietecha-Posluszny\***, A. Moos, M. Wieczorek, P. Knihnicki, P. Kościelniak

H5 Development of microextraction by packed sorbent for toxicological analysis of tricyclic antidepressant drugs in human oral fluid

*Journal of Chromatography A*, 1337, 9-16, (2014)

**Lista MNiSW: 40, IF=3,981; (4,008); cyt. 10**

Udział własny: 50%; koncepcja badań, zaplanowanie i opracowanie warunków oraz wybór optymalnych sorbentów do mikroekstrakcji na upakowanym sorbencie, opracowanie parametrów izolacji TCAD z matrycy z próbek śliny, interpretacja otrzymanych wyników, sporządzenie wybranych rycin i obliczeń, opracowanie tekstu publikacji, korespondencja z edytorem i recenzentami.

---

A. Woźniakiewicz, **R. Wietecha-Posluszny\***, M. Woźniakiewicz, J. Nowak, P. Kościelniak

H6 Development of the MAE/UHPLC-MS-TOF method for determination of benzodiazepines in human bio-fluids for toxicological analysis

*Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 108, 97-101 (2015)

**Lista MNiSW: 35, IF = 3,255; (2,953); cyt. 6**

Udział własny: 60%; koncepcja badań w ramach projektu Iuventus Plus, zaplanowanie oraz wybór optymalnych warunków dla analizy próbek płynów ustrojowych na obecność leków z grupy benzodiazepin, interpretacja otrzymanych wyników, sporządzenie rycin i obliczeń, opracowanie tekstu publikacji, opracowanie odpowiedzi na pytania oraz korespondencja z edytorem i recenzentami.

---

A. Woźniakiewicz, **R. Wietecha-Posluszny\***, M. Woźniakiewicz, E. Bryczek, P. Kościelniak

H7 A quick method for determination of psychoactive agents in serum and hair by using capillary electrophoresis and mass spectrometry

*Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 111, 177-185 (2015)

**Lista MNiSW: 35, IF = 3,255; (2,953); cyt. 7**

Udział własny: 40%; koncepcja badań w ramach projektu Iuventus Plus, zaplanowanie i opracowanie warunków separacji przedmiotowych substancji psychoaktywnych, interpretacja otrzymanych wyników, zredagowanie wybranych rycin i obliczeń, opracowanie tekstu publikacji, opracowanie odpowiedzi na pytania oraz korespondencja z edytorem i recenzentami.

---

**Renata Wietecha-Posluszny\***, Sofia Lendor, Magdalena Garnysz, Marcin Zawadzki, Paweł Kościelniak

H8

Human bone marrow as a tissue in post-mortem identification and determination of psychoactive substances - Screening methodology

*Journal of Chromatography B*, 1061-1062, 459-467 (2017)

**Lista MNiSW: 30, IF = 2,603; (2,711);0**

Udział własny: 70%; koncepcja badań w ramach projektu Sonata Bis 6, zaplanowanie optymalizacji separacji ponad 35 analitów w pojedynczej próbce szpiku ludzkiego. Opracowanie i interpretacja otrzymanych wyników analitycznych, weryfikacja wyników w oparciu o badania międzylaboratoryjne z Zakładem Medycyny Sądowej we Wrocławiu, opracowanie tekstu manuskryptu, wybranych tabel i rycin. Odpowiedzi na pytania recenzentów oraz korespondencja z edytorem i recenzentami.

---

**Dla prac oryginalnych (8): Suma IF = 27,92 (27,78)**

**Średni IF = 3,5 (3,5)**

**Suma pt. MNiSW = 290 (36,5)**

#### **4.3. Omówienie celu naukowego przedłożonych publikacji oraz najważniejszych wyników**

##### **Doświadczenie naukowo-badawcze przed habilitacją - wprowadzenie**

W 1995 roku rozpoczęłam studia magisterskie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Swoją pracę magisterską wykonywałam na kierunku Chemia, w ramach specjalności Chemia sądowa oraz Analityka środowiskowo-przemysłowa. Tytuł magistra chemii uzyskałam w dniu 06.06.2000 roku na podstawie opracowanej pracy pod tytułem „Oznaczanie alkaloidów opium we włosach narkomanów objętych programem metadonowym z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas”, którą wykonywałam pod kierunkiem prof. dr hab. Pawła Kościelniaka z Wydziału Chemii UJ oraz dr Romana Stanaszka z Instytutu Ekspertyz Sądowych im. Jana Sehna. Cała część eksperymentalna pracy była wykonana w laboratoriach Instytutu Ekspertyz Sądowych im. Jana Sehna. Praca ta została nagrodzona Nagrodą Dra. Jana Zygmunta Robla jako najlepsza praca magisterska w dziedzinie nauk sądowych w 2001 roku. Na 5 roku studiów odbyłam również serię szkoleń i praktyk w Instytucie Ekspertyz Sądowych oraz w laboratorium przemysłowym Firmy Oponiarskiej w Dębicy, co pozwoliło mi znacząco poszerzyć swoją

wiedzę oraz zapoznać się z różnymi technikami instrumentalnymi (m.in. rozdzielczymi i spektroskopowymi), wykorzystywanymi w analizie zarówno materiałów biologicznych, jak również próbek nieorganicznych różnego pochodzenia.

Bezpośrednio po zakończeniu studiów magisterskich od 01.10.2000 roku rozpoczęłam studia doktoranckie na WCHUJ. Moją działalność naukową i badania prowadziłam pod kierunkiem profesora dr hab. Pawła Kościelniaka w Pracowni Chemii Sądowej wchodzącej w skład Zakładu Chemii Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz w ramach współpracy z IES. Badania te dotyczyły zagadnień związanych zarówno z chemią analityczną, jak również z zagadnieniami związanymi z toksykologią sądową i fizykochemią kryminalistyczną.

**Podstawowym celem moich badań w ramach doktoratu było opracowanie efektywnych i uniwersalnych metod analitycznych, które mogłyby być wykorzystane w ekspertyzie sądowej.** Prowadzone badania związane były z problematyką analizy różnych materiałów biologicznych pod kątem oznaczania selenu i arsenu oraz opracowaniem uniwersalnej procedury oznaczania tych pierwiastków w różnych materiałach biologicznych, między innymi w płynach ustrojowych i tkankach. W doborze najwłaściwszej procedury kierowałam się zarówno możliwą do uzyskania najlepszą jakością wyników analitycznych (charakteryzujących się przede wszystkim dobrą powtarzalnością i dokładnością), jak również aspektami ekonomicznymi obejmującymi koszt przeprowadzanej analizy, szybkość i prostotę wykonywania poszczególnych oznaczeń itp.

Do analizy materiałów biologicznych pod kątem oznaczania selenu i arsenu, zastosowałam postępowanie analityczne obejmujące wykorzystanie wysokociśnieniowej mineralizacji mikrofalowej oraz techniki atomowej spektrometrii fluorescencyjnej połączonej z generacją wodorków (HG-AFS). Technika HG-AFS charakteryzuje się licznymi zaletami (bardzo dużą czułością, szerokim zakresem liniowości wskazań, stosunkowo niską granicą oznaczalności i tanimi wymaganiami aparaturowymi). Wspomniane zalety techniki HG-AFS są bardzo pożądane w dziedzinie badań toksykologicznych i klinicznych. Wykonane eksperymenty obejmowały analizę rozmaitych, o różnym stopniu złożoności materiałów biologicznych, a także były ukierunkowane w stronę różnych problemów merytorycznych. Badania dotyczyły m.in. wyznaczania zakresów stężeń fizjologicznych równocześnie obu wspomnianych pierwiastków w próbkach krwi, osoczu, surowicy, moczu i włosach ludzkich, próbkach tkanek mózgu (próbkach zwierzęcych) oraz poziomów toksycznych w przypadkach ostrych zatruc selenem i arsenem w różnych materiałach sekcyjnych: ludzkich tkankach narządów wewnętrznych (w tkance płuca, wątroby, nerki itp.), płynach ustrojowych (płynie z gałki ocznej, płynie mózgowo-rdzeniowy, żółci).

Na podstawie analizy tak licznej grupy różnorodnych próbek biologicznych wykazałam uniwersalność i użyteczność opracowanej procedury w różnych praktycznych zastosowaniach. Udowodniłam, że dzięki bardzo dobrej czułości zaproponowana procedura może być zastosowana do śledzenia minimalnych zmian poziomów stężeń fizjologicznych selenu i arsenu, wywołanych działaniem czynników zewnętrznych (zanieczyszczenia środowiska, diety wzbogaconej interesującymi nas pierwiastkami, sposobem leczenia itp.) na organizm ludzki lub zwierzęcy. Zaletę tę ujawniono w ramach badań obejmujących analizę próbek włosów (w szczególności analizę segmentacyjną), próbek moczu (pobranych od ochotników objętych specjalnie opracowaną dietą o podwyższonej zawartości selenu i arsenu) oraz próbek kory

mózgowej szczurów (poddanych eksperymentalnemu modelowi chronicznego stresu i leczeniu antydepresyjnemu). Przeprowadzone badania porównawcze w ramach analizy tkanek nowotworowych tarczycy (o niewielkich masach, znacznie poniżej 0,5 grama) pod kątem oznaczania selenu za pomocą dwóch metod analitycznych (GF-AAS i HG-AFS) wykazały, że tylko metoda o niższej granicy oznaczalności (HG-AFS) umożliwia otrzymanie wiarygodnych wyników analitycznych.

W kolejnym etapie badań rozszerzyłam zakres badanych materiałów i ewentualnego zastosowania opracowanej metody w badaniach klinicznych i środowiskowych. Zoptymalizowaną procedurę mineralizacji i oznaczania wspomnianych pierwiastków zastosowałam do szeregu badań obejmujących: oznaczanie selenu i arsenu w materiale biologicznym żywym i sekcyjnym dostarczonym przez szpital im. Rydygiera, Instytut Ekspertyz Sądowych, Zakład Medycyny Sądowej oraz Wydział Farmacji Collegium Medicum UJ. Wśród badanych materiałów znajdowały się: próbki surowicy i moczu pobrane od ochotników stanowiących grupę kontrolną (badania dotyczyły wyznaczenia zakresów fizjologicznych stężeń selenu i arsenu), próbki moczu pobierane od ochotników poddanych specjalnie opracowanej diecie o podwyższonej zawartości obu pierwiastków (co miało na celu monitorowanie zmian poziomów stężeń selenu i arsenu w zależności od zaprojektowanej diety), próbki różnego rodzaju guzów tarczycy (badanie poziomu selenu będącego markerem choroby nowotworowej), analiza materiału sekcyjnego pod kątem oznaczania arsenu, pobranego podczas sekcji zwłok dwóch mężczyzn, którzy spożyli znaczną ilość białej substancji niewiadomego pochodzenia. Dokładność uzyskanych wyników sprawdziłam za pomocą analizy odpowiednich materiałów referencyjnych posiadających certyfikowane wartości stężeń selenu i arsenu zarówno na poziomach toksycznych jak i fizjologicznych. Otrzymane wyniki charakteryzują się bardzo dobrą dokładnością w związku z tym opracowana przeze mnie procedura może być rutynowo zastosowana do oznaczania śladowych ilości selenu i arsenu w różnych materiałach biologicznych tj. płyny ustrojowe i tkanki. Wykonane badania oraz opublikowane prace w czasopiśmie analitycznych i sądowych o zasięgu międzynarodowym były częścią mojego projektu promotorskiego, finansowanego przez Komitet Badań Naukowych pt. „Adaptacja i weryfikacja nowej metody oznaczania selenu w materiałach biologicznych”, jak również podstawą mojej pracy doktorskiej zatytułowanej „Metoda oznaczania selenu i arsenu w materiałach biologicznych techniką atomowej spektrometrii fluorescencyjnej z generacją wodorków” obronionej w 2004 roku na Wydziale Chemii UJ. Ponadto opracowana metodologia ta nadal jest stosowana przez mnie m.in. w badaniach prowadzonych w ramach współpracy z Wydziałem Farmacji Collegium Medicum UJ do badań dotyczących zagadnień gospodarki selenem w przypadku pacjentów z chorobami tarczycy.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych, zostałam zatrudniona na Wydziale Chemii UJ na stanowisku asystenta, a następnie adiunkta (w okresie od 1 października 2008 roku do chwili obecnej). W trakcie trwania asystentury i adiunktury rozszerzałam swoją wiedzę o kolejne zastosowania metod instrumentalnych w dziedzinie chemii sądowej dla potrzeb analityki toksykologiczno-sądowej i jednocześnie rozwijałam nowy, fizyko-chemiczny nurt badań prowadzony w Pracowni Chemii Sądowej UJ, nad analizą materiałów kryjących. Byłam m.in. wykonawcą grantu zatytułowanego „**Zastosowanie elektroforezy kapilarnej jako narzędzia w badaniach dokumentów drukowanych atramentami dla potrzeb wymiaru**



**sprawiedliwości**”, a następnie kierownikiem kolejnego grantu: „**Wykorzystanie nowoczesnego instrumentarium analitycznego dla potrzeb zwalczania przestępstw przeciwko dokumentom**”, finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju i w ramach współpracy z IES w Krakowie.

Przestępstwa przeciwko dokumentom stały się w Polsce problemem o szczególnym nasileniu na przestrzeni ostatnich lat. Do dokumentów najczęściej podrabianych i przerabianych należą dowody zakupu i obrotu towarami (np. faktury, listy przewozowe), umowy funduszy emerytalnych, recepty lekarskie, dyplomy ukończenia szkół oraz świadectwa uzyskania odpowiednich kwalifikacji zawodowych oraz wiele innych dokumentów. W ramach badań nad pierwszym grantem przeprowadzono szereg eksperymentów ustalając optymalne warunki analityczne nowej metody elektroforezy kapilarnej z zastosowaniem systemu P/ACE MDQ z uniwersalną detekcją DAD w zakresie promieniowania od 190 – 600 nm. Uzyskane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że pomimo różnic w składzie atramentów kolorowych i czarnych można do ich analizy pobierać jednakową ilość materiału do badań, a do przeprowadzenia rozdzielania techniką MECC stosować ten sam elektrolit podstawowy. Szczegółowe wnioski wysunięte na podstawie przeprowadzonych badań obejmują następujące parametry: optymalny bufor separacyjny o składzie: 40 mM boranu sodu, 20 mM SDS, (10 %, v/v) ACN; optymalne warunki aparaturowe to: temperatura pomiaru (kapilary) – 25°C, temperatura modułu na próbki – 10°C oraz średnica wewnętrzna kapilary – 75 µm; próbka pobrana w liczbie 25 zadrukowanych krążków o średnicy 0,8 mm jest optymalna do uzyskania profilu elektroforetycznego dającego możliwość wiarygodnej interpretacji; optymalne rozpuszczalniki stosowane do nastrzyku to mieszanina elektrolitu podstawowego z wodą w stosunku objętościowym 1:99 dla atramentów kolorowych oraz roztwór o takich samych składnikach zmieszanych w proporcji (1:1, v/v) dla atramentów czarnych. W wyżej wymienionych warunkach metoda spełnia podstawowe kryteria dotyczące badania dokumentów pod kątem kryminalistycznym, tj. daje możliwość uzyskania wiarygodnych wyników analitycznych przy niewielkim zniszczeniu dokumentu i w stosunkowo krótkim czasie. Przeprowadzone badania porównawcze wykazały, że technika micelarnej elektrokinetycznej chromatografii kapilarnej może być z powodzeniem stosowana do różnicowania atramentów kolorowych, a także większości czarnych (tych, których składniki można przeprowadzić do roztworu w odpowiedniej ilości). Uzyskane wyniki, dały możliwość stwierdzenia, że opracowana metoda pozwala dostrzec różnice pomiędzy profilami elektroforetycznymi kolorowych atramentów różnych wytwórców (rozdzielanie inter-producent). Jest także możliwe porównanie inter-model, choć w dużej mierze jego powodzenie zależy od modelu drukarki, a właściwie od zamontowanego w niej zasobnika. Niektórzy producenci drukarek, w różnych modelach swoich wyrobów, stosują zasobniki o takich samych numerach identyfikacyjnych. Na podstawie otrzymanych wyników, można było także przeprowadzić identyfikację grupową i z dużym prawdopodobieństwem określić producenta, rodzaj atramentu (numer zasobnika), a po uwzględnieniu tej informacji przypuszczalny model drukarki. Rozróżnienie atramentów czarnych było znacznie bardziej problematyczne, głównie ze względu na małą wydajność ekstrakcji. Niemożliwe do analizy techniką MECC okazały się także atramenty zawierające jako główny składnik Carbon Black (cząsteczki sadzy), bowiem zakłócały one następujący później proces rozdzielania zatykając prześwit kapilary. Badania próbek rzeczywistych atramentów kolorowych w przeprowadzonym teście

wewnątrzlaboratoryjnym, na podstawie stworzonej wcześniej biblioteki profili elektroforetycznych, pozwoliły na identyfikację grupową analizowanych nieznanymi atramentów. Informacje na temat oryginalnego pochodzenia badanych atramentów drukarkowych (uzyskane po teście) potwierdziły prawidłowość wysuniętych wniosków. Opracowana metoda umożliwiała także rozróżnianie, z prawdopodobieństwem graniczącym z pewnością, dwóch atramentów czarnych pobranych z tego samego podejrzanego o sfałszowanie dokumentu. Eksperymenty z użyciem atramentów płynnych udowodniły również duże możliwości opracowanej metody w stosunku do atramentów pobieranych bezpośrednio z zasobników.

Na podstawie otrzymanych wyników należy zaznaczyć, że elektroforeza kapilarna jest bardzo skutecznym narzędziem analitycznym, które może być z powodzeniem wykorzystywane w jakościowej analizie porównawczej i identyfikacyjnej m.in. atramentów drukarkowych. Opracowana metodologia ponadto stanowiła pionierski wkład w rozwój, zarówno kryminalistycznej ekspertyzy dokumentów, jak i chemii analitycznej oraz wypełniła istniejącą lukę w metodyce badania dokumentów dla potrzeb sądowych. Przeprowadzone badania dały początek rozwojowi nowoczesnego instrumentarium obejmującego badanie dokumentów w dziedzinie chemii sądowej z wykorzystaniem technik: CE-MS, LIBS i SEC.

W związku z tym faktem w ramach drugiego grantu rozpoczęłam badania nad różnymi metodami instrumentalnymi w dziedzinie analizy dokumentów, zarówno materiałów kryjących jak również podłoża papierowego. W badaniach podjęto próbę analizy składników materiałów kryjących z wykorzystaniem wodnego buforu separacyjnego. Badania przeprowadzono dla wzorców barwników, często spotykanych w materiałach kryjących (fioletu metyloвого, błękitu Wiktorii typu B i R, rodaminu oraz błękitu patentowego). Podstawowymi kryteriami doboru składu buforu separacyjnego było rozdzielnie pików pochodzących od poszczególnych barwników do linii bazowej oraz uzyskanie jak najkrótszego czasu analizy. Do separacji wykorzystano system do elektroforezy kapilarnej sprzężony ze spektrometrem mas. Na podstawie otrzymanych wyników wybrano optymalny skład buforu oraz warunki aparaturowe. Medium wprowadzającym próbkę do kapilary był bufor separacyjny. Pomiary prowadzono w kapilarze ze stopionej krzemionki, pokrytej warstwą poliimidu o długości całkowitej 100 cm oraz średnicy wewnętrznej 50  $\mu\text{m}$ . Pomiary wykonywano w temperaturze 25°C, natomiast próbki przechowywano w 10°C. Spektrometr mas wyposażony był w źródło jonizacji typu ESI<sup>+</sup>. Przeprowadzono również walidację metody dyskryminacji materiałów kryjących, dla ekstraktów z wybranego czarno-białego wydruku atramentowego sporządzonego na drukarce marki Hewlett-Packard Business Inkret 1200. W ramach przeprowadzonych pomiarów wyznaczono % RSD dla czasów migracji 7 składników badanego ekstraktu (5 pochodzących z atramentu, 2 z papieru) dla powtarzalności nastrzyku próbki (%RSD czasów migracji w granicach 0,17 - 0,42% w zależności od czasu migracji poszczególnych pików), powtarzalności próbkowania (%RSD od 0,31% - 1,13%), odtwarzalności próbkowania (%RSD w granicach 0,27 - 1,32%), powtarzalności ekstrakcji (%RSD od 0,25 - 1,63%), oraz zmiany kapilary i osoby przeprowadzającej analizę.

Ponadto przeprowadzone badania potwierdziły występowanie bardzo charakterystycznego widma masowego pochodzącego od dodatku stosowanego w atramentach - polimeru z różnymi grupami końcowymi - poli(tlenku etylenu). Rozkład sygnałów m/z dla

obecnego w atramentach polimeru jest charakterystyczny dla atramentowych pochodzących od poszczególnych producentów.

Skolekcjonowane, najbardziej popularne próbki 85-ciu pisarskich materiałów kryjących naniesionych na podłoże papierowe poddano analizie wcześniej opracowaną i zoptymalizowaną metodą wykorzystującą technikę laserowo indukowanego rozpadu (LIBS). W przeprowadzonych eksperymentach wykorzystano układ LIBS wyposażony w impulsowy laser Nd:YAG, emitujący promieniowanie o długości fali 1064 nm, generujący impulsy o energii 150 mJ i czasie trwania 6 s oraz spektrometr pracujący w zakresach 255 - 416 i 496 - 718 nm. Dla każdego z badanych obiektów zebrano średnie widmo pierwiastkowe dla 5 impulsów laserowych, każdy o mocy 255 W, w 5 punktach pomiarowych. Zastosowany czas opóźnienia rejestracji względem impulsu laserowego wynosił 1,27  $\mu$ s, podczas gdy czas integracji - 1,2 ms. Analiza widm pierwiastkowych wykazała obecność m.in. 8 pierwiastków w badanych próbkach: Ba, Cr, Cu, Fe, Li, Mo, Mn, Ni. Analiza porównawcza ujawniła różnice w jakościowym składzie pierwiastkowym pomiędzy badanymi próbkami. Moc różnicująca metody LIBS wyniosła 91, 91 oraz 85% odpowiednio dla niebieskich, czarnych i czerwonych materiałów kryjących. Badaniom poddano również 56 czarnych wydruków atramentowych sporządzonych na drukarkach różnych producentów (Brother, Canon, Epson, Hewlett-Packard, Lexmark). Dla każdego badanego atramentu zebrano średnie widmo pierwiastkowe dla 5 strzałów w 5 różnych punktach pomiarowych. Impulsy laserowe charakteryzowała moc, wyrażona jako Q-switch delay, 175  $\mu$ s. Czas opóźnienia rejestracji względem impulsu laserowego wynosił 1,27  $\mu$ s, a czas integracji - 1,1 ms. Wstępne badania próbek atramentowych wykazały występowanie Cu, Li, Ni, Mn w badanych próbkach. W rezultacie pozwoliło to na utworzenie 7 grup atramentów różniących się składem pierwiastkowym.

Kolejnym etapem badań była analiza podłoża na którym sporządzany jest dokument. Przebadano różne gatunki papieru. W ramach badań wykonano pomiary za pomocą chromatografu żelowego oraz kolumny typu mixed-bed Jordi 250 $\times$ 10 mm, wypełnienie diwinylobenzen, zakres rozdzielności 100-10M g/mol, wyposażonego w detektory: Wyatt – wielokątowego rozpraszania światła oraz refraktometryczny. Specyficzny inkrement współczynnika załamania światła (dn/dc) wyznaczono dla tego układu pomiarowego jako równy 0.162 ml/g. Celuloza poddana została derywatywacji do trifenylokarbaminianu, a następnie rozpuszczona w tetrahydrofuranie. Stopień podstawienia przyjęto jako równy 2,92. Do obliczeń masy molowej zastosowano model Zimma i 1. stopień dopasowania do krzywej Debye'a. Wyznaczone rozkłady mas cząsteczkowych dla większości badanych próbek są monomodalne, ale w przypadku papieru Navigator 120 na rozkładzie mas cząsteczkowych uwidacznia się drugie maksimum. Szczególne możliwości w zakresie analizy środków piszących (past długopisowych) wykazano również techniką obrazowania hiperspektralnego (Hyperspectral Imaging, HI), która pozwala na uzyskanie szczegółowej informacji spektralnej dla każdego punktu analizowanego obrazu. Wszystkie badania zostały przeze mnie opublikowane w periodykach międzynarodowych – (autoreferat w pt 5.2).

Swoje doświadczenie, zdobyte w wyniku prowadzonych wcześniej licznych badań w zakresie opracowania i zastosowania różnorodnych procedur analitycznych w analizie sądowej, pozwoliło mi przede wszystkim na poszerzenie i zgłębienie mojej głównej tematyki badawczej

dotyczącej opracowania i walidacji nowych rozwiązań metodycznych stosowanych w analizie toksykologiczno-sądowej.

### Cel badań realizowanych w ramach habilitacji

**Celem prowadzonych przeze mnie badań naukowych, opisanych w pracach zgłoszonych do niniejszego postępowania habilitacyjnego [1-8, H1-H8], było opracowanie i optymalizacja metod izolacji oraz oznaczania ksenobiotyków z grupy substancji psychoaktywnych w materiałach biologicznych dla potrzeb analityki toksykologiczno-sądowej.**

W ramach niniejszych badań, swoją uwagę skupiałam na opracowaniu nowoczesnych, szybkich i efektywnych metod przygotowania różnych materiałów biologicznych, obejmujących zarówno płyny ustrojowe oraz tkanki pobrane przyżyciowo lub post-mortem oraz analizę próbek metodami separacyjnymi.

### **Wprowadzenie i motywacja podjęcia badań**

Proces przygotowania próbki do badań stanowi jeden z pierwszych i krytycznych etapów jej analizy, który bez względu na dalsze fazy postępowania z próbką (pomiar przy użyciu specjalistycznej aparatury, odpowiednio dobrana metoda opracowania wyników), określa jakość i wiarygodność otrzymywanych rezultatów analizy chemicznej. Przyjmuje się, że etap przygotowania próbki stanowi źródło ok. 60% sumy wszystkich błędów popełnianych w trakcie całego toku analitycznego [9]. W związku z tym etap przygotowania próbek ma bezwzględnie decydujący wpływ na wyniki analizy związków organicznych w tak złożonych matrycach jak: ludzkie płyny ustrojowe lub tkanki. Należy również podkreślić, że próbki takiego materiału, jak surowica, ślina czy włosy, są znacznie bardziej skomplikowane od wielu innych próbek biologicznych m.in. ze względu na obecność w nich licznych białek, soli, kwasów, zasad i różnych ksenobiotyków o podobnych właściwościach do interesującego nas analitu lub grupy analitów [10,11,12,H1-H8]. Najpopularniejszą techniką oczyszczania próbek biologicznych jest proces ekstrakcji, który umożliwia izolację analitów z matrycy pierwotnej, a następnie ich transport do tzw. matrycy wtórnej. Podczas tego procesu skład matrycy próbki ulega zdecydowanemu uproszczeniu i często jest bardziej odpowiedni dla zastosowanej techniki analitycznej. Zastosowanie ekstrakcji do przygotowania różnego rodzaju matryc ponadto umożliwia w wielu przypadkach zateżenie wybranych analitów, a co za tym idzie nowe możliwości analityczne t.j. obniżenie granicy oznaczalności metody analitycznej [9,10]. Osiągnięcie tego celu nie jest proste i w rezultacie ekstrakcja analitów z próbek biologicznych następuje wiele trudności technicznych i analitycznych, np. powstawanie emulsji, zatrucie sorbentów, czy też obserwowane liczne efekty interferencyjne podczas pomiarów.

Należy podkreślić, iż w wielu laboratoriach sądowych i klinicznych, do przygotowania prób materiału biologicznego rutynowo stosuje się konwencjonalne i czasochłonne techniki ekstrakcyjne, z wykorzystaniem najczęściej dużych ilości rozpuszczalników organicznych. Najczęściej, płyny ustrojowe poddaje się tradycyjnej ekstrakcji typu ciecz-ciecz (*LLE, ang. Liquid-Liquid Extraction*), a stałe próbki biologiczne (wycinki narządów wewnętrznych) - ekstrakcji rozpuszczalnikowej np. metodą Soxhleta, poprzedzonej odpowiednim przygotowaniem badanego materiału (odbiałaniem, odtłuszczeniem, hydrolizą) [13] lub w

przypadku prób włosów - wieloetapowej ekstrakcji do fazy stałej (SPE, ang. *Solid Phase Extraction*), połączonej z wielogodziną inkubacją w zadanej temperaturze [14]. Z danych literaturowych oraz z praktyki laboratoryjnej wynika, że pomimo prostoty wykonania jaką charakteryzuje się ekstrakcja LLE ma ona jednak szereg ograniczeń. Przede wszystkim wymaga stosowania dużych ilości rozpuszczalników, co wiąże się ze zwiększeniem kosztów prowadzenia analizy, szczególnie w przypadku stosowania rozpuszczalników o wysokiej czystości. Co więcej, kolejną wadą tej techniki jest czasochłonność oraz bardzo mała wydajność i selektywność procesu [9,15].

W literaturze naukowej dotyczącej toksykologii sądowej można znaleźć doniesienia o zastosowaniu ekstrakcji w układzie ciecz-ciecz do przygotowania różnego rodzaju próbek oraz porównanie tej klasycznej techniki z nieco nowocześniejszymi technikami takimi jak SPE [15-18]. Przykład stanowią badania Borges i wsp., którzy opracowali procedurę jednoczesnego oznaczania siedmiu leków z grupy benzodiazepin: flunitrazepamu, klonazepamu, oxazepamu, lorazepamu, chlordiazepoksydu, nordiazepamu oraz diazepamu w ludzkim osoczu. Autorzy do przygotowania próbek zastosowali ekstrakcję LLE oraz ekstrakcję do fazy stałej SPE, a jako metodę analityczną wykorzystano wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją spektrofotometryczną. Rezultaty badań nie były zadawalające, a wydajność ekstrakcji dla badanych leków z grupy benzodiazepin wynosiła nieco ponad 65%; dla próbek poddanych ekstrakcji techniką ciecz-ciecz oraz ponad 55% dla próbek ekstrahowanych do fazy stałej [15]. Staack i wsp. opisali metodę oznaczania benzylopiperazyny w ludzkim moczu, wykorzystując ekstrakcję ciecz-ciecz na etapie przygotowania próbki. Po uprzedniej hydrolizie, do 5 ml próbki dodano 1,5 ml 10 M wodnego roztworu wodorotlenku sodu, a następnie 2 ml 2,3 M wodnego roztworu siarczanu amonu, w celu osiągnięcia pH odpowiedniego: w granicach 8-9. W tym przypadku otrzymany roztwór poddano ekstrakcji stosując aż 5 ml mieszaniny dichlorometan:izopropanol:octan etylu (1:1:3; v/v/v). W rezultacie wydajność ekstrakcji benzylopiperazyny w moczu wyniosła  $45 \pm 8\%$ , a granica wykrywalności 100 ng/ml [19].

**Analiza doniesień literaturowy ewidentnie wskazuje na potrzebę opracowywania metod przygotowania materiałów biologicznego zapewniających zdecydowanie wyższą wydajność procesu**, a także opracowanie metod analizy tego materiału zapewniających zdecydowanie lepsze parametry analityczne m.in. niższe poziomy oznaczania leków w próbkach biologicznych oraz bardzo dobrą precyzję oznaczeń.

### **Zastosowanie nowoczesnych technik w badaniach toksykologiczno-sądowych**

Do nowoczesnych technik izolowania organicznych analitów z bardzo złożonych próbek należy m.in. ekstrakcja wspomagana mikrofalami (MAE, z ang. *Microwave Assisted Extraction*) oraz ekstrakcja na upakowanym sorbencie (MEPS, z ang. *Microextraction on Packed Sorbent*). Ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym łączy w sobie wiele cennych cech, które wyróżniają ją na tle innych technik przygotowania próbek, a także stanowią o jej bardzo dużym potencjale, który jeszcze, jak wynika z analizy danych literaturowych, nie został całkowicie zrealizowany w analizie chemicznej, szczególnie w takich dziedzinach jak analiza sądowa lub kliniczna. Do głównych zalet MAE należą: duża efektywność (możliwość uzyskania w zoptymalizowanych warunkach dużej wydajności) i szybkość procesu ekstrakcyjnego (rzędu kilku minut), możliwość zastosowania tej techniki do

większości analitów organicznych i różnych rodzajów matryc biologicznych, szeroki dobór rozpuszczalników ekstrakcyjnych, prostota i bezpieczeństwo zastosowania w praktyce [20-22].

Zastosowanie ekstrakcji typu MEPS jest uniwersalne - zapewnia zużycie małych objętości próbek (10 µl) jak i dużych (1000 µl) [23], ponadto selektywną ekstrakcję, bardzo skuteczne zateżenie oznaczanych analitów oraz eliminację tak niepożądanego zjawiska jakim jest tzw. efekt matrycy [23,24]. Jest to szczególnie istotne w przypadku analizy materiałów biologicznych takich jak krew, surowica czy włosy, które charakteryzują się bardzo złożoną matrycą [25-28].

Inspiracją do badań realizowanych w ramach rozprawy habilitacyjnej były powyższe przesłanki na temat efektywnego wykorzystania m.in. promieniowania mikrofalowego na etapie izolacji substancji organicznych z trudnych matryc biologicznych tj. rośliny i gleby oraz uniwersalność metody MEPS z wykorzystaniem sorbentów m.in. C18 w mikroukładach ekstrakcyjnych [29-33]. Dodatkowo ważnym aspektem okazała się potrzeba kontroli stężenia leków psychotropowych, jak również innych ksenobiotyków i ich metabolitów nie tylko w klasycznych materiałach tj.: krew, surowica, ale również w tzw. alternatywnych materiałach jakimi: są włosy, ślina i szpik kostny w praktyce toksykologiczno-sądowej [34-36].

Różnorodność oznaczanych związków w analizach toksykologicznych, bardzo złożony skład matrycy, szczególnie w przypadku materiałów alternatywnych oraz wymagane przez reprezentowaną przeze mnie dziedzinę analityki toksykologiczno-sądowej niskie granice oznaczalności ksenobiotyków wymagają opracowania efektywnych narzędzi dla współczesnej analityki toksykologiczno-sądowej.

Mając na uwadze powyższe zagadnienia podjęłam badania naukowe w zakresie opracowania nowoczesnych procedur analitycznych dostosowanych do specyfiki dziedziny, którą reprezentuję. Badania dotyczyły:

Nowatorskich metod izolacji najbardziej istotnych w dziedzinie toksykologii sądowej substancji psychoaktywnych (ksenobiotyków): leków z grup benzodiazepin (t.j. bromazepam, midazolam, tetrazepam, nordiazepam, nitrazepam, oksazepam, lorazepam, estazolam, klonazepam, alprazolam, temazepam, flunitrazepam, diazepam, lormetazepam, prazepam) [H4,H6,H8], trójpierścieniowych leków przeciwdepresyjnych t.j. (doksepina, dezypramina, imipramina, nortryptylina, amitryptylina, klomipramina) [H1,H2,H3,H5,H8] selektywnych inhibitorów zwrotnego wychwytu serotoniny lub serotoniny i noradrenaliny (t.j. wenlafaksyna, citalopram, paroksetyna, fluoksetyna, sertralina), a także karbamazepina, zolpidem [H8]. Ponadto do oznaczanych analitów dołączono związek psychoaktywny występujący w produktach typu „dopalacze” – beznzylopiperaznę [H7]. Dodatkowo w badaniach w opracowaniu procedur uwzględniono metabolity badanych leków, takie jak np. 7-aminoklonazepam, 7-aminoflunitrazepam, 7-aminonitrazepam, 1 i 4 hydroksymidazolam, hydroksyalprazolam desmetyloflunitrazepam, 10-hydroksyamitryptylina, 10-hydroksynortryptylina, 2-hydroksyimipramina, 2-hydroksydezypramina, 8-hydroksyklomipramina, desmetyloklomipramina, desmetylocitalopram, norfluoksetyna, desmetylosertralina, O-desmetylowenlafaksyna, oxkarbazepina czy 10,11-dihydro, 10-hydroksykarbamazepina na poziomach terapeutycznych oraz toksycznych [H1-H8].

*Należy podkreślić, że spośród badanej grupy analitów oznaczane leki należą do najczęściej spotykanych związków w sprawach sądowych i klinicznych, dotyczących przede wszystkim zatruc niniejszymi farmaceutykami.* Poza tym leki lub grupy wyżej wymienionych

leków, muszą być brane przez analityka-toksykologa pod wnikliwą uwagę jednocześnie. Leki te są często przepisywane przez lekarzy i stosowane w terapii równocześnie, jak również wykorzystywane w próbach samobójczych będących przedmiotem ekspertyzy sądowej.

Opracowanie i zastosowanie nowatorskich i efektywnych metodologii izolacji rozpoczęłam od wykorzystania ekstrakcji ciecz-ciecz wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym [H1, H2, H4, H7 i H8]. Pierwsze badania związane z opracowaniem procedury ekstrakcji mikrofalowej obejmowały analizę klasycznego materiału - próbek ludzkiej surowicy i oznaczanie w niej leków z grupy trójcyklicznych leków przeciwdepresyjnych (TCAD, *ang. Tricyclic Antidepressant*) oraz ich metabolitów (doksepiny, nordoksepiny, imipraminy, dezypraminy, amitryptyliny i nortryptyliny [H1]). W tym przypadku do oznaczania wybranych analitów w surowicy, która pozwala na wykrycie związków przyjętych w niewielkim odstępie czasu od poboru próbki, została zastosowana metoda wysokosprawnej chromatografii ciecowej z uniwersalnym detektorem matrycy diod (HPLC-DAD). W pierwszym etapie opracowania nowego podejścia dokonałam optymalizacji warunków procesu ekstrakcji MAE i porównałam parametry nowego podejścia z wynikami otrzymanymi z wykorzystaniem klasycznego podejścia jakim była ekstrakcja LLE – rys. 2 [H1].

Należy podkreślić, że skuteczność procesu MAE zależy od wielu czynników, najważniejszymi z nich są m.in.: rodzaj rozpuszczalnika lub mieszanina rozpuszczalników, objętość rozpuszczalnika, moc promieniowania mikrofalowego, czas trwania ekspozycji na mikrofałę, masa próbki, charakter próbki, charakter oznaczanego analitu [21,22]. Uwzględniając współczynnik rozpraszania oraz procesy zachodzące podczas ogrzewania mikrofalowego, zarówno dipolowy jak również jonowy oraz właściwości próbki i analitów (posiadających różne wartości współczynnika  $pK_a$  w zakresie 9,0-10,2), ostatecznie wybrałam do testowania cztery układy ekstrakcyjne (n-heksan:alk. izoamyłowy (99:1, v/v), octan etylu:cykloheksan (1:1, v/v), n-heksan-aceton (3:1, v/v), toluen-alk. izoamyłowy:n-heksan (76:4:20, v/v/v)) [21,37-39]. Testowałam również moc zastosowanego promieniowania, temperaturę i czas całkowitego procesu. Do oceny wpływu testowanych parametrów na efektywność ekstrakcji MAE w niniejszych badaniach wybrałam kluczowy parametr analityczny jakim jest wydajność procesu ekstrakcji. Zaproponowałam również matematyczne podejście – funkcje F, zapewniającą ostatecznie wybór najlepszych parametrów chemicznych i aparaturowych dla wszystkich badanych analitów. Wszystkie wartości funkcji F zamieszczono w tabeli 3 [H1] dla testowanych mieszanin ekstrakcyjnych, zarówno dla procesu MAE oraz LLE. Po przeprowadzeniu badań optymalizacyjnych wybrałam najlepsze warunki ekstrakcji oraz mieszaninę jaką była mieszanina n-heksanu i alkoholu izoamyłowego w stosunku objętościowym (99:1, v/v). W tym przypadku udział rozpuszczalnika nie posiadającego cząsteczek dipolowych ( $\epsilon'=1,88$ ) był możliwy ze względu na właściwości polarne badanego materiału biologicznego zawierającego ponad 50% wody, czym zostały zapewnione kryteria stawiane ekstrahentom stosowanym w układach MAE. Taki układ ekstrakcyjny ponadto zapewnił dla wszystkich analitów wysoką wydajność – rys. 1 [H1] i bardzo powtarzalne wyniki (RSD) na poziomie od 1,57 do 11,09%, gdzie dla analizy materiału biologicznego kryterium akceptowalności przyjmuje się na poziomie 15%. Z faktu, że proces mikrofalowy związany jest z stosowaniem podwyższonych temperatur w bardzo krótkim czasie, a przedmiotem analizy były leki, których temperatura rozkładu jest stosunkowo niska. Ważnym kryterium w optymalizacji całego procesu przygotowania materiału biologicznego do

analizy było ustalenie maksymalnej, zapewniającej skuteczną izolację, ale nie wpływającą na poszczególne struktury leków temperaturę. Oznaczane anality - leki z grupy TCAD są bardzo wrażliwe na działanie wysokich temperatur [40], stąd podjęłam się również optymalizacji temperatury procesu ekstrakcji. Po przeprowadzeniu badań ustaliłam, że maksymalna temperatura jaka może zostać zastosowana to 60°C, a całkowity proces to ogrzewanie próbki surowicy wraz z roztworem ekstahującym promieniowaniem przez dwie minuty, a następnie utrzymywanie go w temperaturze 60°C przez 1 minutę. Taki proces zapewnia wysoką wydajność analitów oraz bardzo dobrze oczyszczone ekstrakty z substancji interferujących w porównaniu do metod spotykanych w literaturze [24,25]. W celu sprawdzenia wiarygodności zoptymalizowanej metody MAE/HPLC-DAD analizowałam próbki surowicy kontrolnej zawierający określone stężenia wszystkich badanych analitów. Otrzymane wyniki były zgodne z wartościami oczekiwanymi - tabela 5 [H1] oraz wyznaczyłam parametry walidacyjne opracowanej metody MAE/HPLC-DAD, które zostały zestawione w tabeli 4 [H1].

*Należy podkreślić, że była to pierwsza praca w dziedzinie toksykologii sądowej wykorzystująca promieniowanie mikrofalowe jako metodę przygotowania próbek surowicy i analizę tego rodzaju materiału biologicznego na obecność leków z grupy TCAD oraz dała początek rozwojowi pozostałych opracowanych przeze mnie szybkich i wydajnych metodologii analizy materiału biologicznego.*

W analizie toksykologiczno-sądowej bardzo często wykorzystuje się alternatywny materiał biologiczny m.in. włosy. Włosy są tkanką, która pozwala na wyjątkową tzw. retrospektywną analizę [41,42]. Materiał ten posiada szerokie okno detekcji, które w zależności od długości badanej próbki włosów mieści się w zakresie od kilku dni do wielu lat. Dzięki analizie próbek włosów można wykryć oraz określić czas przyjęcia lub zbrodniczego podania ksenobiotyku ofierze oraz uzupełnić całkowity obraz toksykologiczny uzyskany z analiz klasycznych materiałów t.j. krwi czy moczu, których okna detekcji są zdecydowanie węższe i wynoszą od kilku godzin do kilku dni [42,43]. Kolejną zaletą próbek włosów jest jej nieinwazyjny i prosty sposób poboru próbki. Według zaleceń *Society of Hair Testing (SoHT)* próbkę włosów należy pobierać z części potylicznej (*vertex posterior*), bowiem w tym miejscu włosy są najmniej zróżnicowane pod względem prędkości wzrostu oraz ilości włosów w stanie wzrostu, a także wykazują mniejszą zmienność w zależności od płci i wieku. Masa próbki przeznaczonej do analizy zależy od zastosowanej techniki analitycznej. Z danych literaturowych wynika, że waha się od ona od jednego włosa do 200 mg. Pobrane próbki włosów można przechowywać w temperaturze pokojowej odpowiednio zabezpieczone przed czynnikami zewnętrznymi [44].

Oznaczanie ksenobiotyków we włosach posiada również ograniczenia [43]. Przygotowanie tego materiału biologicznego do badań jest zdecydowanie bardziej czasochłonne w porównaniu z materiałami klasycznymi, obejmuje procedurę mycia, hydrolizę, izolację i analizę [44]. W swoich badaniach skupiłam się na opracowaniu kompleksowego podejścia obejmującego całą procedurę przygotowania i analizę włosów na obecność leków z grupy TCAD [H2].

*Nowatorstwo przeprowadzonych badań polegało na tym, że po raz pierwszy zastosowano energię mikrofalową nie tylko na etapie ekstrakcji ale również, co jest bardzo istotne, na etapie hydrolizy próbek włosów, łącząc oba etapy w jeden proces (MAH/MAE).*



*Dzięki takiemu podejściu wyeliminowano stosowany do tej pory, długotrwały etap inkubacji włosów przed właściwą ekstrakcją.*

W ramach badań optymalizacyjnych wszystkie próbki były poddane wystandaryzowanej przez mnie procedurze mycia [45], obejmującej sekwencyjne oczyszczanie za pomocą: 0,1% dodecylsulfonian sodu, wody, acetonu i ponownie wody. Do analizy pobierano ok. 0,45 mg próbki wcześniej zmielonych włosów. W badaniach optymalizacyjnych wykorzystałam fakt, że leki z grupy TCAD są lekami zasadowymi (pKa ok. 9,5), co ewidentnie wskazuje na możliwość zastosowania alkalicznego roztwarzania próbek włosów. Z kolei fakt, iż hydrolizat jest alkaliczny, pozwolił mi na połączenie etapu hydrolizy i ekstrakcji analitów z próbek włosów. Procesy hydrolizy i ekstrakcji wspomagane mikrofalami były prowadzone w dwóch wariantach jednocześnie i oddzielnie, co zostało szczegółowo zaprezentowane w tabeli 2 [H2]. Do ekstrakcji leków z grupy TCAD (amitryptyliny, doksepiny, dezypraminy, imipraminy, nordoksepiny, nortryptyliny, klomipraminy i norklomipraminy) zastosowano mieszaninę n-heksanu i alkoholu izoamyłowego w stosunku objętościowym (99:1, v/v) oraz ustaloną temperaturę zarówno do procesu hydrolizy jak i ekstrakcji 60°C [H1]. W przeprowadzonych badaniach pilotażowych zaobserwowałam, że zastosowanie wyższej temperatury na etapie hydrolizy zdecydowanie skraca cały proces, jednakże odbywa się to kosztem znaczącej utraty analitów.

Najistotniejszymi parametrami w całej procedurze (MAH/MAE) było określenie czasu i wariantu prowadzenia procesu oraz właściwe stężenie roztworu alkalicznego próbkę. W celu oceny porównano uzyskane wyniki pod względem wydajności, mierzonej na podstawie wysokości pików pochodzących od danych leków. Na podstawie otrzymanych chromatogramów – rys. 1 [H2] można było jednoznacznie stwierdzić, że proces hydrolizy połączony z procesem ekstrakcji zapewnia wyższą wydajność analitów. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono ponadto, iż procesy prowadzone przy zastosowaniu 0,6 M NaOH były nieefektywne i odznaczały się niską wydajnością procesu. Wyniki z przeprowadzonych badań z zastosowaniem bardziej alkalicznego środowiska, gdzie stężenie NaOH było równe 1,0 M, procesu prowadzonego przez 20 i 40 min, odznaczały się wysoką wydajnością ekstrakcji – rys. 2 [H2]. Niemniej jednak, 20 minutowy proces MAH-MAE charakteryzował się gorszą powtarzalnością uzyskanych wyników (RDS>13,3%) w porównaniu do 40 minutowej izolacji mikrofalowej badanych leków z próbek włosów, gdzie średnie wartości RSD oscylowały ok. 5,8%. Jako optymalne warunki oznaczania analizowanych leków z próbek włosów wybrano proces izolacji prowadzony przez 40 minut z wykorzystaniem 1,0 M roztworu wodorotlenku sodu. W tych warunkach wydajność ekstrakcji dla wszystkich badanych leków oscylowała wokół 100%.

Zoptymalizowana metoda MAH/MAE/HPLC-DAD została poddana procesowi walidacji, otrzymane parametry walidacyjne zamieszczono w tabeli 3 oraz 4 [H2], gdzie podczas oznaczania amitryptyliny, dezypraminy, doksepiny, imipraminy, nordoksepiny i nortryptyliny jako wzorzec wewnętrzny - IS wykorzystano klomipraminę, natomiast imipraminę zastosowano jako wzorzec wewnętrzny dla klomipraminy i norklomipraminy.

*Należy podkreślić, że opracowana kompleksowa metodyka charakteryzuje się bardzo dobrymi wartościami parametrów walidacyjnych i może być stosowana w ekspertyzie toksykologiczno-sądowej.*

Zwalidowana metoda została również zastosowana do analizy próbek rzeczywistych, osoby leczonej m.in. preparatem Anafranil zawierającym (Novartis, Szwajcaria) zawierającym chlorowodorek klomipraminy jako substancję czynną. Kluczowym celem ekspertyzy było określenie czy w pobranym materiale biologicznym obecna jest klomipramina lub jej metabolit - norklomipramina. Próbką była pobrana ok. 18 miesięcy po zakończeniu terapii. W tym przypadku analizie poddano 4-cm odcinek peryferyjny włosów o długości ok. 26 cm., jako IS zastosowano imipraminę ( $c=40 \mu\text{g/g}$ ). Uzyskane wyniki potwierdziły obecność metabolitu norklomipraminy w badanych naturalnych próbkach włosów – rys. 3 [H2]. Analiza ilościowa wykazała, iż stężenie norklomipraminy w badanej próbce wynosiło  $5,3 \pm 0,3 \mu\text{g/g}$ ,  $n=4$ , co jest zgodne z danymi literaturowymi [46]. Brak piku pochodzącego od klomipraminy jest związany z różnicą w polarności między lekiem macierzystym a jego metabolitami oraz właściwościami fizyko-chemicznymi włosów [42,43]. W tym przypadku bardziej polarny nor-metabolit klomipraminy podlegał wolniejszemu procesowi wypłukiwania ze struktury włosa niż lek macierzysty – klomipramina. Z danych literaturowych wynika [46,47], że dla leków z grupy TCAD ich średnie stężenie we włosach powoli maleje w miarę wzrostu łodygi włosa, m.in. na skutek ich pielęgnacji, stąd też po roku czasu (12-15 cm odcinek włosa) w strukturze włosa pozostaje jedynie 4% całkowitej zawartości leku.

*Podsumowując, z pełnym przekonaniem można stwierdzić, że opracowana metoda MAH/MAE/HPLC-DAD jest szybka, wydajna w porównaniu do spotykanych w literaturze [48], charakteryzuje się bardzo dobrą precyzją i dzięki niskim granicom oznaczalności umożliwia oznaczanie leków z grupy TCAD i ich metabolitów nawet na poziomach terapeutycznych.*

Analiza włosów w ekspertyzie sądowej odgrywa bardzo ważną rolę, stąd istnieje bardzo duże zapotrzebowanie na nowe metody umożliwiające szybką analizę różnych ksenobiotyków we włosach i porównywanie ich stężeń w materiałach klasycznych [35,49]. W pracach [H4] i [H6] podjęłam się opracowania wydajnej metody oznaczania nowej grupy leków jaką były leki z grupy benzodiazepin (BZD, z ang. *Benzodiazepin*), należące do najczęściej przepisywanych leków nasennych i uspakajających. Cechują je względnie mała szkodliwość, jednak błędnie dobrana dawka, intencjonalne przedawkowanie, konsumpcja w połączeniu z alkoholem lub innymi substancjami psychotropowymi i odurzającymi prowadzi do poważnego zatrucia. Leki z grupy beznodiazepin w wielu przypadkach powodują upośledzenie zdolności psychomotorycznych, przyczyniając się do kolizji drogowych, a także są stosowane w celach przestępczych jako tzw. tabletki gwałtu [49,50].

Z analitycznego punktu widzenia podstawą i największą trudnością w opracowaniu metodyk dedykowanych do oznaczania leków z grupy beznodiazepin na potrzeby analityki toksykologiczno-sądowej, jest przede wszystkim bardzo dobra czułość metody i zminimalizowanie efektów interferencyjnych. Wspomniane analityki występują na niskich poziomach stężeń w materiałach biologicznych, a ich efekt terapeutyczny może być już znacząco istotny dla życia lub zdrowia człowieka [40,50]. Na etapie przygotowania próbek materiału biologicznego włosów [H4] oraz krwi i surowicy [H6] do oznaczania leków z grupy BZD wykorzystano efektywną ekstrakcję mikrofalową zapewniającą wysoką wydajność procesu oraz pozbawiony składników interferencyjnych roztwór ekstrakcyjny, co zostało udowodnione we wcześniejszych badaniach [H1,H2].

Na etapie optymalizacji przygotowania próbek włosów przetestowano trzy najlepsze układy ekstrakcyjne, które obejmowały roztwory posiadające zróżnicowaną stałą dielektryczną

( $\epsilon'$ ), zapewniające jak najwyższy współczynnik wydajności ekstrakcji dla badanych analitów z próbek włosów – tabela 2 [H4]. Warto zauważyć, że na etapie optymalizacji i doboru najlepszych parametrów zastosowano niestandardową w analizie toksykologicznej metodologię optymalnego planowania doświadczeń (OED, z ang. *Optimal Experimental Design*). W badaniach optymalizacyjnych zastosowano plan doświadczalny Doehlerta [51,52], którego zaletą jest m.in. dostarczanie informacji o obszarach pomiędzy punktami uwzględniając interakcję pomiędzy zmiennymi oraz redukcję liczby doświadczeń, a tym samym kosztów i czasu analizy, macierz planu Doehlerta zamieszczono w tabeli 1 [H4]. Podczas badań uwzględniono zarówno czynniki chemiczne jak i fizyczne, tj. czas ( $t$ , - 5 poziomów), temperaturę ( $T$  - 7 poziomów) procesu oraz pH środowiska próbki (pH - 3 poziomy). W niniejszym przypadku analizowana sytuacja dotyczyła licznych parametrów, stąd w obliczeniach zastosowano funkcję odpowiedzi ( $D$ , z ang. *Global Desirability Function*) przyjmującą wartość 1 dla najlepszej (optymalnej) wartości, a 0 dla najgorszej. Na podstawie analizy otrzymanych danych można zauważyć, że największy wpływ na proces izolacji mikrofalowej wykazywały parametry: temperatura oraz środowisko próbki oraz, że octan etylu okazał się najlepszym rozpuszczalnikiem zastosowanym do ekstrakcji leków z grupy BZD z materiału biologicznego jakim były próbki włosów – rys. 1 [H4]. W badaniach również zastosowano plan czynnikowy  $3^2$ , pozwalający na szczegółowe wyznaczenie poziomu temperatury, czasu i pH - środowiska reakcji oraz funkcję  $F_{opt}$  uwzględniającą najlepsze wyniki obejmujące testowane parametry dla wszystkich badanych analitów. Reasumując po wykonaniu 15 eksperymentów w ramach planu Doehlerta i 18 eksperymentów według planu czynnikowego za najlepsze warunki przyjęłam ekstrakcję leków z grupy BZD z włosów w medium jakim był octan etylu w temperaturze 75°C, pH 9.5 przez 10 min – [H4].

W przypadku analizy próbek surowicy i krwi również zastosowano wybrane medium ekstrakcyjne (octan etylu) ale ze względu na różnice w zawartości wody oraz substancji białkowych w wspomnianych materiałach, sprawdzono zaproponowaną procedurę ekstrakcji stosując do optymalizacji różne warunki temperaturowe oraz czasu procesu - wartości testowane oraz wartości odpowiedzi funkcji  $F$  podano w tabeli 1 [H6]. Na podstawie otrzymanych wyników w przypadku ekstrakcji leków z grupy BZD optymalny czas ekstrakcji to 10 min oraz temperatura 75°C. W obu przypadkach [H4] i [H6] do analizy próbek materiału biologicznego wykorzystano bardzo czułą metodę analityczną UHPLC-MS-TOF. Jako fazę ruchomą stosowano zoptymalizowaną wcześniej mieszaninę acetonitrylu i buforu pH o wartości 3,4 (0,01 M mrówczanu amonu, 0,1% kwas mrówkowy), w przepływie gradientowym (ACN: 0 min - 10%; 1 min - 25%, 7 min - 35%, 11 min - 70%, 13 min - 10% do 15 min). Szczegółowe parametry pracy spektrometru, zoptymalizowane podczas opracowywania całościowej metodologii podano w sekcji 2.3 [H4] oraz 2.2. [H6]. Opracowana metoda MAE/UHPLC-MS-TOF dla wszystkich badanych materiałów została zwalidowana zgodnie z wytycznymi i po raz pierwszy w literaturze zastosowana przeze mnie w praktyce eksperckiej do analizy próbek włosów [H4] osoby długotrwale leczonej preparatem Myolastan firmy Sanofil-Aventis, zawierającym tertrazepam jako substancje czynną rozluźniającą mięśnie. Po przeprowadzeniu całego postępowania w ramach nowoczesnego przygotowania próbek oraz ich instrumentalnej analizy na podstawie otrzymanych wyników ściśle określono stężenie badanego analitu-tetrazepamu we włosach na poziomie terapeutycznym  $292,6 \pm 27,7$  pg/mg, co potwierdzają dane literaturowe [53]. Ponadto sprawdzono skuteczność proponowanego

sposobu ekstrakcji, stąd podjęto badania w celu sprawdzenia obecności analityków w pozostałości poekstrakcyjnej, które potwierdziło brak analityków w pozostałości poekstrakcyjnej.

Nowoczesne postępowanie MAE/UHPLC-MS-TOF zastosowano również do analizy próbek krwi sekcijnej [H6]: case#1 i case#2 na obecność leków z grupy BZD. Przeprowadzone badania potwierdziły w otrzymanych próbkach oznaczonych jako: case#1 obecność estazolamu na poziomie terapeutycznym oraz w sprawie case#2 stwierdzono obecność lozarepamu na poziomie terapeutycznym, natomiast tetrazepamu na wysokim toksycznym – rys. 2 [H6], co potwierdzają dane literaturowe [54].

*Należy podkreślić, że zoptymalizowane metody MAE-UHPLC-MS-TOF oznaczania leków z grupy BZD zarówno w materiale klasycznym [H6] jak i alternatywnym [H4] wyróżniają się, na tle dostępnych metod w analizie toksykologiczno-sadowej, są: uniwersalne szybkie i zapewniają wysoką wydajność ekstrakcji badanych analityków oraz możliwość oznaczania ich w bardzo szerokim zakresie stężeń obejmującym stężenia terapeutyczne jak i wysokie toksyczne.*

Nowoczesna technika ekstrakcji mikrofalowej (MAE) [H4] została również zaimplementowana do oznaczania leków i ich metabolitów z grupy BZD oraz substancji aktywnej – 1-benzylpiperazyny (BZP, z ang. *1-Benzylpiperazine*) bardzo często spotykanej w środkach odurzających typu „dopalacze” [55], pierwszy raz w połączeniu z inną techniką separacyjną o bardzo dużym potencjale a niedocenianą w analizie toksykologicznej, w tym przypadku techniką tą była elektroforeza kapilarna (CE) z detektorem mas typu czasu przelotu (MS-TOF) [H7]. Badania prowadzono jednocześnie dla dwóch różnych materiałów biologicznych takich jak: surowicy i włosy. Wyzwaniem w prowadzeniu niniejszych badań był dobór właściwego środowiska ekstrakcyjnego, zapewniającego maksymalną wydajność procesu oraz środowiska próbki wymaganego do skutecznej separacji elektroforetycznej analityków różniących się właściwościami.

Przeprowadziłam badania optymalizacyjne polegające na właściwym doborze medium ekstrakcyjnego M1-M6 – tabela 1 [H7] oraz wykonane zostały liczne eksperymenty nad doбором temperatury procesu i czasu ekstrakcji tabela 2 [H7], uwzględniając właściwości badanych tkanek oraz analityków. Szczególnie istotnym etapem badań optymalizacyjnych był wybór odpowiedniego składu buforu separacyjnego/elektrolitu separacyjnego. Na tym etapie wykluczono zastosowanie techniki micelarnej elektrokinetycznej chromatografii kapilarnej (MEKC), która jest często wykorzystywana do separacji leków z grupy BZD, z faktu iż dodatek surfaktantu uniemożliwia połączenie on-line elektroforezy kapilarnej ze spektrometrem mas [56]. Przetestowano 15 różnych układów separacyjnych obejmujący zmienny skład oraz zmienny udział fazy organicznej – tabela 3 [H7]. Dzięki zastosowaniu funkcji optymalizacyjnej  $F_{CE}$  wybrano najlepszy bufor o składzie 100 mM kwasu mrówkowego oraz ACN w stosunku objętościowym 80:20, zapewniający w tym przypadku całkowitą separację badanych analityków – rys. 2 [H7]. W badaniach optymalizacyjnych, jak również walidacyjnych zastosowałam zarówno próbki surowicy jak i włosów ludzkich.

Otrzymane parametry walidacyjne, nowej metody MAE/CE-TOF-MS spełniają wszystkie kryteria stawiane analizie materiału biologicznego, zamieszczono je w tabelach 4 i 5 [H7]. W celu zbadania wiarygodności nowej metody analitycznej przeanalizowano jedyny dostępny handlowo, materiał referencyjny UTAK Laboratories, INC (Holandia), jakim była surowica ludzka zawierająca badane leki i metabolit klonazepamu. Otrzymane w toku analizy poziomy (średni i wysoki) badanych analityków były w pełni zgodne z wartościami

referencyjnymi zmieszonymi w certyfikacie, co świadczy o dobrej dokładności metody – tabela 6 [H7]. Metoda MAE/CE-TOF-MS dodatkowo została zastosowana do analizy materiałów naturalnych (case #1, #2, #3), między innymi w sprawie gdzie wykorzystano analizę retrospektywną oraz ocenę stopnia inkorporacji wybranych leków we włosy, co szczegółowo opisano w rozdziale 4 [H7]. W każdym przypadku do wstępnego przygotowania i analizy próbek włosów wykorzystalam zoptymalizowaną metodę MAE/CE-TOF-MS. Pierwsza próbka pochodziła od osoby zażywającej preparat Myolastan firmy Sanofil-Aventis długoterminowo. Analiza pobranych próbek włosów potwierdziła możliwość wykrywania tertazepamu przez okres nawet do dwóch miesięcy po zakończeniu terapii lub intencjonalnego zażywania leku z grupy BZD oraz wiarygodną, ilościową ocenę poziomu tertazepamu. W kolejnych przypadkach case #2 i #3 wykazano duży potencjał metody wykrywając nawet metabolity m.in. klonazepamu – rys. 1S [H7] oraz przeprowadzono analizę ilościową określając stężenia badanych leków na poziomie terapeutycznym [53,57].

*Reasumując należy podkreślić, że jest to pierwsza w literaturze przedmiotu, metodyka wykorzystująca połączenie technik: MAE i CE-MS w analizie toksykologicznej. Opracowana metoda MAE/CE-TOF-MS ma bardzo duży potencjał, obejmujący szerokie zastosowanie zarówno pod względem badanych analitów, rodzaju materiałów biologicznych jak i zakresów wykrywanych stężeń i stanowi bardzo wiarygodną alternatywę dla innych technik separacyjnych m.in. LC. Może być również wykorzystana w ekspertyzie sądowej jako druga, potwierdzająca wyniki metodyka o innej podstawie fizykochemicznej.*

Medycyna sądowa, jako dziedzina wykorzystująca analizę licznych materiałów biologicznych do ujawniania przyczyny zgonu stawia analitykom ciągle wyzwania. W pracy [H8] zajęłam się analizą wyjątkowego materiału biologicznego, jakim jest szpik kostny. W przypadkach znacznego rozkładu ciała, szkieletyzacji, ekshumacji lub tak częstych w ostatnich latach katastrof, w tym lotniczych, podstawowy materiał taki jak krew nie zawsze jest dostępny. W takich sytuacjach, w ramach ekspertyzy sądowo-lekarskiej, w toku analiz toksykologicznych wykorzystuje się inne materiały, m.in. materiał kostny [58].

Szpik kostny jest silnie ukrwioną tkanką, wypełniającą jamy szpikowe oraz istotę gąbczastą kości. Ze względu na swoje umiejscowienie, szpik jest chroniony przed zanieczyszczeniem i należy do najpóźniej rozkładających się tkanek ludzkich. W niektórych przypadkach może być on wykorzystany do analiz toksykologicznych nawet kilka lat po śmierci. Ze względu na zawartość tłuszczu, szpik kostny jest tkanką potencjalnie dobrze magazynującą związki hydrofobowe. Z kolei dzięki silnemu ukrwieniu, ksenobiotyki mogą być wykrywane w szpiku bardzo szybko po dostaniu się do krwioobiegu, co stanowi cenną alternatywę w badaniach toksykologiczno-sądowych [59,60].

*W swoich badaniach po raz pierwszy wśród nielicznej grupy badaczy zajmujących się tym materiałem, wykorzystalam narzędzie jakim jest ekstrakcja mikrofalowa połączona z techniką LC-MS do przygotowania i analizy szpiku kostnego [H8].*

Do wyodrębnienia ksenobiotyków z materiału kostnego stosowano do tej pory przede wszystkim ekstrakcję ciecz-ciecz (LLE) i ekstrakcję do ciała stałego (SPE). Do oznaczeń wykorzystywano głównie chromatografię gazową (GC) lub cieczową (LC) sprzężoną ze spektrometrem mas lub z detektorem spektrofotometrycznym – tabela 1 [H8].

Swoimi badaniami objęłam 31 analitów, należących do najczęściej spotykanych leków i ich metabolitów: z grup benzodiazepin (t.j. bromazepam, midazolam, tetrazepam,

nordiazepam, nitrazepam, oksazepam, lorazepam, estazolam, klonazepam, alprazolam, temazepam, flunitrazepam, diazepam, lormetazepam, prazepam), trójpierścieniowych leków przeciwdepresyjnych (doksepina, dezypramina, imipramina, nortryptylina, amitryptylina, klomipramina), selektywnych inhibitorów zwrotnego wychwytu serotoniny lub serotoniny i noradrenaliny (t.j. wenlafaksyna, citalopram, paroksetyna, fluoksetyna, sertralina), a także leki przeciw drgawkowe, nasenne tj. karbamazepina, zolpidem. Dodatkowo w opracowaniu nowych procedur uwzględniłam najistotniejsze metabolity badanych leków – tabela 2 [H8].

Należy podkreślić, że szpik kostny pobierany podczas autopsji jest bardzo różnorodny (może mieć konsystencję ciekłą, stałą, zawierać elementy kostne oraz duże komórki tłuszczowych, komórek macierzystych i ciałek morfotycznych krwi [59]). Właściwości tej tkanki zależą od wielu czynników fizyko-chemicznych m.in. uwodnienia, wieku kości, stopnia rozkładu tkanki itp. Istotnym procesem podczas wstępnego przygotowania szpiku kostnego do analizy jest liofilizacja i homogenizacja próbki. Badaniami optymalizacyjnymi objęłam kompleksowe przygotowanie tej tkanki do analizy obejmujące: liofilizację (48h w  $-78^{\circ}\text{C}$ ), homogenizację (łaźnia ultradźwiękowa,  $t=10$  min.), ekstrakcję, odtłuszczenie i analizę na obecność wyżej wymienionych ksenobiotyków.

Proces ekstrakcji był kluczowy etapem z faktu, iż analizą objęte zostały leki o różnej wartości współczynników  $pK_a$  i  $\log P$  – tabela 2 [H8]. Dzięki zastosowaniu metody sympleksów do optymalizacji procesu ekstrakcji, ograniczono liczbę eksperymentów. Przetestowano dwie najistotniejsze zmienne: temperaturę ( $X_1$ ) i czas ekstrakcji ( $X_2$ ) – rys. 1S [H8], gdzie niezależne czynniki zostały uznane za osie współrzędnych tworząc dwuwymiarową przestrzeń, natomiast sympleksem był trójkąt. Zestawy czynników były oceniane za pomocą funkcji odpowiedzi  $Y = n - 0,5 \cdot l$ , gdzie  $n$  to liczba pików i  $l$  liczba pików o intensywności niższej niż 750. Obliczone wartości funkcji  $Y$  dla wszystkich przejść zestawiono w tabeli 4, a ostatecznie najlepsze wyniki osiągnięto dla następujących parametrów: temperatura  $50^{\circ}\text{C}$  i 16 minut czasu oddziaływania próbki z promieniowaniem mikrofalowym dla procesu ekstrakcji prowadzonego w obecności octanu etylu. Do analizy próbek szpiku wykorzystałam metodę ultraszybkiej chromatografii cieczowej z kolumną fenyłową (w układzie fazy mobilnej: 0,1%  $r-r$  kwasu mrówkowego (A) i acetonitrylu (B)) oraz opracowany w ramach badań optymalny program gradientowy: (ACN: 0 min - 5%; 14 min - 70%; 16,5 min - 5%; 20 min - 5%). Warunki pracy spektrometru mas również zostały zoptymalizowane w zakresie mas badanych analitów  $[M+H]^+$  (177-337  $m/z$ ) i zaprezentowane w tabeli 3. Należy również podkreślić, że w przypadku analizy szpiku kostnego, proces odtłuszczenia, okazał się być bezwzględnie konieczny. W każdej badanej próbce, po odparowaniu rozpuszczalnika ekstrakcyjnego pozostawała stosunkowo duża ilość tłuszczu na dnie naczynia (około 20-100  $\mu\text{l}$ , odpowiednio w zależności od rodzaju szpiku). Po rekonstrukcji pozostałości, nadmiar lipidów pozostał obecny nawet po kilku procesach – (cyklach wirowania), stąd zaistniała potrzeba opracowania i zoptymalizowania etapu odtłuszczenia próbek. Optymalna procedura obejmowała dodatek mieszaniny 4 ml heksanu i etanolu (7:2,  $v/v$ ) i 200  $\mu\text{l}$  wody do pozostającego, po odparowaniu rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, filmu tłuszczowego. Faza zawierająca heksan była odrzucana, a faza alkoholowa potencjalnie zawierająca anality dołączona do próbki. Z faktu, że heksan jest również dobrym medium ekstrakcyjnym [H1] przeprowadzono szereg eksperymentów w celu oceny stopnia przechodzenia badanych analitów do fazy lipidowej. Po przeprowadzeniu badań stwierdzono, że wykryto tylko pięć analitów przy niższym stężeniu i dodatkowe 4 w wyższym

stężeniu, ale w obu grupach anality były wykrywane na bardzo niskich poziomach stężeń. Zgodnie z oczekiwaniami, substancje o wysokich wartościach współczynnika podziału między fazą hydrofobową i hydrofilową ( $\log P > 2,5$ ) wykazywały większe powinowactwo do fazy heksanowej zawierającej znaczne ilości lipidów, wśród wykrytych w niewielkich ilościach analitów, były obecne leki z grupy benzodiazepin i trójcyklicznych leków przeciwdepresyjnych. Podczas testów nie stwierdzono, pomimo wysokich wartości  $\log P$ , obecności leków z grupy SSRI - tabela 5 [H8]. Ponadto nie stwierdzono korelacji pomiędzy wartością odzysku z warstwy heksanu a stężeniem analitów. Proces odtłuszczenia zapewnił powtarzalne i wiarygodne wyniki stąd pomimo minimalnych strat niektórych analitów podczas analizy skryningowej podjęłam decyzje o obligatoryjnym stosowaniu etapu odtłuszczenia r-r po ekstrakcyjnego.

*Finalnie, dzięki zoptymalizowaniu najistotniejszych parametrów i etapów przygotowania szpiku kostnego, możliwe było rozdzielenie ponad 30 leków i metabolitów w ciągu 12 minut, co stanowi bardzo duże osiągnięcie w zakresie analizy tak złożonego materiału biologicznego – rys. 1 [H8].*

Metodę MAE/UHPLC-ESI-MS-TOF poddano procesowi walidacji zgodnie z wytycznymi [H4,61,62]. W badaniach walidacyjnych wyznaczono najważniejsze dla analizy toksykologicznej parametry metody MAE/UHPLC-ESI-MS-TOF m.in. linowość (0,22-6,67 ng/mg), poziomy LOD (0,06-1,11 ng/mg) i LOQ (0,2-3,71 ng/mg), powtarzalność (CV, 2-24%) efekt matrycy i inne, wszystkie wartości parametrów dla poszczególnych analitów zamieszczono w tabelach 6 i 7 [H8]. Należy podkreślić, że otrzymane parametry walidacyjne spełniają kryteria SWGTOX opracowane dla metod wykorzystywanych w analizie toksykologicznej [62].

*Sprawdzono również, czy istnieje możliwość stosowania surogatu ludzkiego szpiku w postaci szpiku odzwierzęcego w tym przypadku cielęcego, jako najbardziej zbliżonego składem i przede wszystkim zawartością komórek tłuszczowych. Przeprowadzone wielokrotne testy potwierdziły, że szpik cielęcy – rys. 1 [H8] może zostać z powodzeniem wykorzystany jako materiał zastępczy. W przypadku braku dostępności podczas wykonywanej analizy, do szpiku nie zawierającego badanych analitów, na przykład jako „ślepa” próbkę tkankowa lub na etapie kalibracji. Opracowana przeze mnie skryningowa metoda została wykorzystana w praktyce eksperckiej do badania próbek szpików ludzkich zabezpieczonych podczas autopsji w sprawach sądowych (case #642/15, case#643/15 i case#166/14) w Zakładzie Medycyny Sądowej, Akademii Medycznej we Wrocławiu. Sprawy dotyczyły podejrzenia śmiertelnych zatruc lekami lub grupą leków psychotropowych. W ramach przeprowadzonych badań wykryto w dostarczonych próbkach szpiku szereg substancji psychotropowych, m.in. diazepam, nordiazepam, citalopram oraz w case #166/14 doksepinę, nordiazepam i paroksetynę – rys. 2 [H8]. Należy podkreślić, że analiza szpiku ludzkiego w ekspertyzie toksykologiczno-sądowej dopiero zaczyna się rozwijać, obecne dane literaturowe dotyczące spotykanych poziomów stężeń leków i ich metabolitów w ludzkim szpiku kostnym są bardzo ograniczone [63] w tym przypadku można jak na razie jedynie potwierdzić wykrycie danego analitu oraz dokonać porównania poziomów z wartościami spotykanymi we krwi i innych matrycach [64].*

*Opracowana metoda MAE/UHPLC-ESI-MS-TOF jest pierwszym w literaturze, bardzo skutecznym narzędziem do analizy skryningowej ponad 30 ksenobiotyków w ludzkim szpiku, a dzięki zastosowaniu bardzo wydajnej metody izolacji ksenobiotyków i czulej detekcji jest punktem wyjścia dla różnych grup badaczy do opracowania metod obejmujących analizę ściśle*

ilościową wybranych grup leków i ich metabolitów oraz w przyszłości może być wykorzystana do tak potrzebnych badań jak badania korelacyjne.

Nowatorskie podejście oparte na wykorzystaniu **metody ekstrakcji na upakowanym sorbencie (MEPS)** zastosowałam w analizie próbek surowicy [H3] i próbek płynu z jamy ustnej [H5] do równoczesnego oznaczania leków z grupy trójcyklicznych leków przeciwdepresyjnych oraz ich metabolitów.

Metoda mikroekstrakcji na upakowanym sorbencie posiada szereg zalet takich jak: minimalne zużycie próbki i odczynników, dużą selektywnością dzięki zastosowaniu odpowiednich sorbentów i inne [23,65], co czyni ją bardzo praktyczną w zastosowaniach toksykologiczno-sądowych, a także w klinicznych [66]. Procedura ekstrakcji MEPS obejmuje ściśle określone etapy takie jak: kondycjonowanie, nanoszenie próbki na sorbent, przemywanie złoża i selektywną desorpcję wybranego analitu lub grupy analitów. W literaturze przedmiotu nie istniały procedury obejmujące izolację większej grupy leków psychotropowych z grupy TCAD jedynie procedury obejmujące analizę pojedynczych substancji psychoaktywnych [67].

W ramach przeprowadzonych eksperymentów podjęłam się zbadania wpływu rodzaju sorbentu, całej procedury ekstrakcyjnej obejmującej: objętość stosowanej próbki materiału biologicznego, modyfikatora pH, rodzaju i objętość odczynnika użytego do elucji oraz liczbę cykli ekstrakcyjnych w analizie surowicy na obecność silnych antydepresantów i ich metabolitów: doksepiny, nordoksepiny, imipraminy, dezypraminy, amitryptyliny i nortryptyliny. W przypadku analizy próbek surowicy [H3] zaprojektowałam osiem procedur ekstrakcyjnych (PI-PVIII), które zostały przetestowane w celu oceny i wyboru najlepszego rodzaju sorbentu. Przeprowadzone analizy materiału biologicznego obejmowały testowanie złoż C8, C-18 oraz C8-SCX – tabela 1 [H3], dedykowanych do ekstrakcji leków z grupy TCAD tradycyjną techniką SPE [68,69]. Badane anality należą do leków zasadowych  $pK_a > 9,5$ , stąd ich zwiększone oddziaływanie z niepolarnymi sorbentami typu C8 i C18 w przypadku wysokich wartości pH (dodatek NaOH) na skutek cofnięcia procesu dysocjacji, zaś niższe pH środowiska próbki powoduje wytworzenie się dodatniego ładunku w strukturze badanych związków, co zwiększa powinowactwo tych analitów do fazy stałej złoża kationowymennego (w przypadku sorbentu C8-SCX). Testy wstępne przeprowadzono dla r-r wodnych zawierający badane anality, ekstrakcję MEPS zrealizowano w trybie manualnym (*off-line*) oraz jako metodę detekcji wybrano chromatografię cieczową z detektorem matrycy diod (HPLC-DAD) z optymalizowanym programem izokratycznym i kolumną Spheri-5 C-18.

Z sukcesem wybrano rodzaj złoża MEPS, udowodniono również, że bardzo dobre rezultaty można otrzymać wykorzystując zarówno procedurę IV dla złoża C8 (RSD < 6%) jak również procedurę V dla złoża C8-SCX (RSD, 5-10%). Do ostatecznej oceny wyników i wyboru najlepszej procedury pod względem parametrów analitycznych zastosowano również matematyczne podejście - znormalizowaną funkcję  $F = F' / \max(F')$ . Funkcja  $F'$  ma charakter rosnący i jest wyrażona w postaci równania  $F' = Hk^2$ , gdzie  $H$  jest to średnia wysokość pików odpowiadająca wszystkim badanym analitom w pięciu kolejnych ekstrakcjach, a współczynnik  $k$  w tym przypadku definiuje liczbę analitów dla których powtarzalność wysokości pików uzyskanych dla sześciu badanych analitów w pięciu kolejnych ekstrakcjach jest  $\leq 10\%$ . Maksymalna wartość  $F'$  odzwierciedla najlepsze wyniki ekstrakcji badanych analitów, charakteryzujących się najlepszą powtarzalnością. W celu normalizacji funkcji  $F'$  uzyskane



wyniki odniesiono do jej maksymalnej wartości, otrzymując funkcję  $F$ , której wartości zawierają się w przedziale  $\langle 0,1 \rangle$ . Wszystkie wyznaczone wartości funkcji  $F$  dla badanych warunków zebrano w tabeli 2 [H3]. Na podstawie otrzymanych, najwyższych wartości funkcji  $F = 1.00$  dla procedury IV (C8), oraz  $F = 0,853$  V (C8-SCX), a tym samym najlepszych procedur ekstrakcyjnych, zoptymalizowano objętość aplikowanej próbki oraz objętości rozpuszczalnika ekstrakcyjnego oraz wpływ tych parametrów na wydajność ekstrakcji badanych trójpierścieniowych leków przeciwdepresyjnych. Udowodniono, że im mniejsza objętość próbki (250  $\mu$ l) tym dłużej złoże MEPS pracuje wydajnie, ponadto nie dochodzi od przeładowania sorbentu, a otrzymane wyniki nadal są bardzo wiarygodne. Odwrotna sytuacja miała miejsce z testowaną objętością eluentu (100, 200 i 400  $\mu$ l), gdzie na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że największą objętość zastosowanego eluentu do izolacji TCAD zapewniała maksymalne wartości wydajności ekstrakcji, które oscylowały wokół 100%. Dla poszczególnych sorbentów wartości RSD wynosiły odpowiednio dla C8 RSD% wynosiło 2-9%, natomiast dla C8-SCX RSD% wahało się w zakresie 3-10% - rys. 3 [H3]. Badania optymalizacyjne przeprowadzono również na materiale rzeczywistym jakim była surowica ludzka, ponadto jednocześnie testowano wydajność ekstrakcji stosując klasyczną procedurę SPE/HPLC dedykowaną do izolacji leków z grupy TCAD z surowicy [68,69]. Wykonano badania walidacyjne dla obu metod oraz sprawdzono wiarygodność metod: MEPS/HPLC-DAD i SPE/HPLC-DAD m.in. analizując certyfikowany materiał odniesienia surowicy ludzkiej – Clinical&Forensic Lot. No. 2121 (UTAK Laboratories, Inc. USA – tabela 5 [H3]. Otrzymane wyniki udowodniły wyższość ekstrakcji MEPS nad SPE poprzez: wyższe wartości wydajności ekstrakcji i odzysku analitu bliskie 100%, bardzo dobrą zgodność z wartościami certyfikowanymi - tabela 5 [H3] oraz dobrą precyzję otrzymanych wyników stężeń badanych analitów (wartości RSD wahały się w przedziale 3-10% dla materiału biologicznego) – tabela 4 i 5 [H3], ponadto niewielkie zużycie próbki i eluentu, wielokrotne zastosowanie sorbentu do 10 razy dla materiału biologicznego i 40 dla r-rów wodnych.

*Opracowana metoda MEPS/HPLC-DAD [H3] została zoptymalizowana i przetestowana na materiale biologicznym, otrzymane wyniki potwierdzają jej liczne zalety i możliwość wykorzystania w analityce toksykologiczno-sądowej, szczególnie w przypadku kiedy ekspert – toksykolog dysponuje małą ilością próbki. Jest pierwszą metodą w literaturze obejmującą jednoczesną ekstrakcję MEPS leków z grupy TCAD i ich metabolitów, może być również zastosowana on-line w układach chromatograficznych LC i GC oraz CE, a wyznaczona granica wykrywalności sześciu badanych analitów oraz powtarzalność uzyskanych wyników pozwala na wiarygodną analizę ilościową tych substancji nawet na poziomach terapeutycznych.*

W ramach kontynuacji i rozwoju metody przygotowania materiału biologicznego, technika MEPS [H3] została przeze mnie wykorzystana również do analizy materiału alternatywnego – płynu z jamy ustnej (w tym śliny) [H5]. Próbki tego typu materiału alternatywnego często pobierane są od kierowców prowadzących pojazdy pod wpływem środków odurzających lub leków psychotropowych oraz osób leczonych psychiatrycznie biorących udział w zdarzeniach kryminalnych [70,71]. Należy podkreślić, że płyn z jamy ustnej jest mieszaniną śliny wydzielanej przez ślinianki przyuszne, podżuchwowe, podjęzykowe oraz gruczoły policzkowe [72]. Znaczącą część płynu z jamy ustnej stanowi woda, około 94-99,5% oraz pozostałe składniki tj. bakterie i ich metabolity i inne [73,74]. Próbka płynu z jamy ustnej

może być pobierana w różnorodny sposób, bez stymulacji [H5], bądź za pomocą specjalnie w tym celu dedykowanych aplikatorów takich jak: zestaw Salivette® [75], składający się z bawełnianej bibułki, którą według wyznaczonej przez producenta procedury pobiera się próbkę przez około dwie minuty. Tak przygotowaną bibułkę ponownie przekłada się do plastikowego pojemnika [76]. Przed właściwą analizą np. chromatograficzną, próbka musi być przeniesiona do łaźni ultradźwiękowej, a następnie odwirowana. Kolejnym etapem analizy jest ekstrakcja np. ciec-z-ciecz [70], do fazy stałej [77], bądź mikroekstrakcja do fazy stałej [78], w tym przypadku wykorzystana do ekstrakcji związków z grupy kanabinoidów.

Celem prowadzonych przeze mnie badań było kompleksowe podejście obejmujące opracowanie metody analizy płynu z jamy ustnej na obecność, bardzo popularnych w leczeniu psychiatrycznym, leków z grupy TCAD i ich odpowiednich metabolitów, będących również substancjami aktywnymi i stosowanymi jako leki: (doksepiny, nordoksepiny, imipraminy, dezypraminy, amitryptyliny i nortryptyliny). Ze względu na niskie poziomy stężenie badanych analitów spotykanych w analizach płynu z jamy ustnej, do detekcji zastosowano zoptymalizowane metody HPLC-UV i UHPLC/MS. Kluczowym etapem w analizie tego typu alternatywnego materiału było opracowanie właściwego sposobu pobierania próbek płynu z jamy ustnej: pozbawioną pęcherzy powietrza oraz substancji interferujących oraz ustalenie wstępnego przygotowania próbki: właściwego doboru pH zastosowanego modyfikatora, odizolowania substancji zatykających sorbent i bardzo wydajnej ekstrakcji, zapewniającej wysoki i wiarygodny odzysk analitów [H5].

Na etapie badań wstępnych udowodniono, że tylko bezpośrednie pobieranie próbek śliny metodą grawitacyjną zapewnia najmniej napowietrzoną próbkę. Należy podkreślić, że przy innych metodologiach (m.in. Salivette® oraz filtrów typu Ministart RC15 i innych) – rys. 1 (procedury I-IV) [H5], nawet późniejsze zabiegi z odwirowaniem i wymrażaniem próbek pobieranych po filtracji były zdecydowanie gorszym podejściem. W przeprowadzonych badaniach również wykazano, że podczas stosowania filtrów typu: RC (0,2 µm); RC (0,45 µm), PP (0,45 µm), NYL (0,45 µm), dedykowanych do pobierania tego typu próbek, dochodzi wręcz do zatrzymania badanych analitów i braku ich obecności podczas analizy chromatograficznej. Zdecydowanie najlepsze efekty były identyfikowane w procedurach obejmujących wykorzystanie ultradźwięków i wirowania próbki w różnych warunkach temperaturowych – w szczególności na poziomach (-1 i +22°C), na etapie wstępnego przygotowania próbek płynu z jamy ustnej. Testowane zmodyfikowane procedury (V-XII) szczegółowo zostały przedstawiono na schemacie – rys. 3 [H5], a w obliczeniach i wskazaniu ostatecznie optymalnych warunków postępowania podczas przygotowania próbek do analizy, wykorzystano wartości wydajności ekstrakcji, które znormalizowano dla każdego analitu za pomocą funkcji Derringera – tabela 1 [H5]. Otrzymane wyniki jednoznacznie wskazują na warunki stosowane w procedurze nr X, gdzie maksymalne wartości funkcji otrzymano aż dla trzech analitów (nordoksepiny, nortryptyliny i amitryptyliny) ponadto całkowita wartość funkcji odpowiedzi osiągnęła maksymalną wartość: 0,785. Ponadto udowodniono, iż zastosowanie podwójnego wirowania (w warunkach 10 min, 10000 obr/min.) w obniżonej temperaturze pozwala na przedłużoną żywotność sorbentów BIN, a tym samym na możliwość wykonywania wielokrotnych ekstrakcji za pomocą jednego sorbentu (dla tego typu materiału biologicznego nawet do 25 pełnych cykli ekstrakcyjnych) bez obecności efektów matrycowych.

Należy podkreślić, że aspekt żywotności sorbentów jest istotny również ze względu na koszty całej procedury, jak również aspekt ekologiczny.

Na tej podstawie do dalszych badań została wybrana i poddana walidacji efektywna procedura nr X obejmująca: pobieranie próbki metodą grawitacyjną, rozcieńczanie buforem fosforanowym o pH 7,5 (1:2, v/v), homogenizację w łaźni ultradźwiękowej przez 30 min, wirowanie 2x10 min w temp. -1 °C, następnie ekstrakcję MEPS na sorbencie C8/SCX, a jako r-r ekstrakcyjny zastosowana została mieszanina (metanol, woda, r-r amoniaku w stosunku: 95:4:1, v/v/v) zapewniająca dużą wydajność procesu ekstrakcji. Próbki materiału biologicznego następnie były analizowane chromatograficznie z użyciem fazy stacjonarnej - kolumny fenylowej (Hypersil Gold Phenyl) o małym uziarnieniu (1,9 μm), termostatowana w temperaturze 35°C. Zoptymalizowana metoda chromatograficzna realizowana była w wcześniej zoptymalizowanym układzie gradientowym. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina roztworu mrówczanu amonu o stężeniu 10 mmol/l z 0,05% kwasem mrówkowym (pH 3,4) (faza A) i 0,1% kwas mrówkowy w ACN (faza B w układzie): 0 min - 10%; 1 min - 35%, 7 min - 60%, 8 min - 70%, 11 min - 70%, 15 min - 10% przy przepływie 0,15 ml/min.

Zoptymalizowano również parametry pracy spektrometru masowego QTOF. Spektrometr pracował w trybie jonów dodatnich, a identyfikacji dokonywano na podstawie monitorowanych mas jonów  $[M+H]^+$  oraz ich czasów retencji co przedstawiono m.in. na chromatografach – rys. 4 [H5]. Metoda MEPS/UHPLC-MS została poddana procesowi walidacji i wyznaczono najważniejsze parametry analityczne, jako wzorzec wewnątrz zastosowano deuterowana pochodną leku z grupy TCAD – kłomipraminę – D3 [H3 i H5]. Wyznaczono wartości: linowości, wartości granic wykrywalności i oznaczalności dla każdego analitu oraz precyzję oznaczeń na poziomie trzech stężeń (2, 4, 8 ng/ml) wszystkie dane liczbowe zamieszczono w tabeli 2 [H5]. Ponadto zbadano dokładność opracowanej metody przeprowadzając dla każdego poziomu stężeń osobne doświadczenia oraz określono efekt matrycy - stosując matryce próbek pochodzące od różnych osób. Obliczone wartości RE i ME są bardzo dobre i potwierdzają wysoką jakość opracowanej metody analitycznej, zaprezentowano je w tabeli 3 [H5]. Na podstawie analizy parametrów analitycznych wynika, że nowo opracowana metoda MEPS/UHPLC-MS jest precyzyjna (CV wynosi: 0,5 - 8,1% dla większości analitów dla wybranych trzech poziomów stężeń, jedynie dla dezypraminy i amitryptyliny na poziomie stężeń 4 ng/ml, CV wynosi odpowiednio: 12,0 i 12,2%, co i tak spełniania kryteria akceptacji dla analiz toksykologicznych [61,62]. Opracowana metoda jest również metodą wiarygodną, gdzie wartości błędu względnego RE w zależności od rodzaju analitu mieściły się w przedziale od -9,5% do +7,3 % dla nortryptyliny, pozostałe wartości oscylowały średnio wokół wartości  $\pm 1,7\%$  w zależności od badanego analitu.

W celu potwierdzenia wiarygodności metody przeprowadzono analizę próbek pobranych od pacjentów zażywających leki z grupy TCAD. Opracowany innowacyjny sposób przygotowania próbek płynu z jamy ustnej pozwolił na przeprowadzenie analizy i oznaczenie badanych ksenobiotyków również na poziomie terapeutycznym. Badaniem objęto wybranych pacjentów zażywających m.in. preparaty: Amitryptylinum VP w dawce 10 mg na dobę (case P#1) lub 25 mg na dobę, oraz Doxepin w dawce 25 mg na dobę (case P#2 i P#3) w zależności od zaleconej przez lekarza terapii. W pierwszym przypadku P#1 w pobranych próbkach oznaczono amitryptylinę na poziomie:  $2,26 \pm 0,09$  ng/ml oraz odpowiedni metabolit na poziomie:  $1,79 \pm 0,16$  ng/ml, natomiast dla: P#2 odpowiednio amitryptylinę na poziomie:

12,1±0,4 ng/ml i nortryptylinę na poziomie 6,36±0,37 ng/ml oraz doksepinę w stężeniu: 3,66±0,18 ng/ml i metabolit nordoksepinę: 7,23±0,43 ng/ml i w przypadku trzecim P#3 amitryptylinę na poziomie: 13,8±0,9 ng/ml i nortryptylinę na poziomie: 5,98±0,27 ng/ml oraz doksepinę i nordoksepinę odpowiednio w stężeniu: 3,66±0,18 ng/ml i 2,22±0,28 ng/ml – rys. 4 [H5]. Należy podkreślić, że wszystkie poziomy leków i metabolitów są zgodne z poziomami terapeutycznymi spotykanymi podczas leczenia tymi preparatami farmaceutycznymi, zawierającymi jako środki aktywne leki z grupy TCAD [50].

*Analiza próbek rzeczywistych (case P#1, P#2, P#3) z całą pewnością potwierdziła potencjał opracowanego, nowego narzędzia analitycznego i tym samym udowodniła jego skuteczność w przypadku analizy uniwersalnego materiału alternatywnego - jakim jest płyn z jamy ustnej. Metoda MEPS/UHPLC-MS pozwala jednocześnie na oznaczanie leków, jak również metabolitów obecnych w organizmie po zażyciu i biotransformacji leku. Z tego względu metoda znajduje szerokie zastosowanie w analizach toksykologiczno-sądowych, gdzie kluczowym elementem ekspertyzy jest potwierdzenie zażycia danej substancji i stwierdzenie czy dana osoba była pod wpływem danej substancji. Potwierdzona w toku analizy obecność metabolitu również wyklucza ewentualne „zafalszowanie” próbek materiału biologicznego dodatkiem substancji odurzających przez osoby trzecie. Parametry analityczne nowej metody spełniają najważniejsze kryteria i wymogi stawiane metodom wykorzystywanym w analizach toksykologicznych. Metoda ta, może być stosowana w rutynowych analizach sądowych jak i klinicznych do oceny postępów leczenia jak i dostosowania dawek dla poszczególnych pacjentów.*

### **Elementy nowości, wkład do dyscypliny oraz podsumowanie osiągnięcia naukowego**

Zaprezentowany cykl publikacji [H1–H8] stanowi kompleksowe opracowanie procedur przygotowania próbek biologicznych materiałów: klasycznych i alternatywnych oraz procedur oznaczania w nich leków i ich metabolitów na potrzeby analityki toksykologiczno-sądowej. Wyniki badań otrzymane i opisane w pracach tworzących jednotematyczny blok publikacji, zgodny z założonym celem badawczym, pozwalają na następujące podsumowanie mojego osiągnięcia naukowego:

1. Opracowałam nowoczesne, selektywne, szybkie i wydajne metody przygotowania próbek materiałów biologicznych klasycznych i alternatywnych (ciekłych i stałych) z zastosowaniem ekstrakcji wspomagananej promieniowaniem mikrofalowym (MAE) [H1, H2, H4, H7 i H8] oraz zminiaturyzowanej mikroekstrakcji na upakowanym sorbencie (MEPS) [H3, H5], pod kątem izolacji leków i ich metabolitów należących do różnych grup terapeutycznych, o nieheterogenicznym charakterze fizykochemicznym oraz substancji psychoaktywnej – 1-benzylopiperazyny (BZP), obecnej w środkach odurzających typu „dopalacze”.
2. Dokonałam systematycznych badań optymalizacyjnych, z wykorzystaniem różnych narzędzi chemometrycznych, oraz oceny wpływu najważniejszych parametrów na wydajność i efektywność opracowanych procedur ekstrakcyjnych w układzie: ciecz-ciecz wspomaganym promieniowaniem mikrofalowym (m.in. określiłam rodzaj oraz objętość odczynnika ekstrakcyjnego, pH i objętość próbki, moc i czas ekspozycji roztworu ekstrakcyjnego), w układzie ciało stałe-ciecz, w metodzie

- MEPS (gdzie m.in. zoptymalizowałam rodzaj sorbentu, objętość oraz rodzaj rozpuszczalnika stosowanego do elucji, pH oraz maksymalną objętość badanej próbki materiału biologicznego).
3. Dzięki wydajnym i szybkim procedurom wprowadziłam do dziedziny analityki toksykologiczno-sądowej wiarygodną i uniwersalną analizę szerokiej gamy, różnorodnych materiałów biologicznych obejmujących: krew pobraną przyżyciowo [H6], krew sekcyjną [H6,H8], surowicę [H1,H3,H7], a przede wszystkim alternatywnych materiałów biologicznych, rzadko spotykanych w literaturze, takich jak: włosy [H2,H4,H7] śliny (płynu z jamy ustnej) [H5], szpiku kostnego pobranego pośmiertnie [H8]. Zoptymalizowane procedury, z wykorzystaniem procesu ekstrakcji MAE i MEPS, pozwoliły mi otrzymywać skutecznie oczyszczone, pozbawione składników interferujących ekstrakty. Otrzymane w ten sposób roztwory, z selektywnie i efektywnie wyizolowaną mieszaniną badanych analitów i ich metabolitów, można było poddać analizie ilościowej, zapewniającej otrzymanie dokładnych i precyzyjnych wyników.
  4. Opracowałam selektywne metody rozdzielania mieszanin wieloskładnikowych (wielolekowych) z zastosowaniem metod elektroforezy kapilarnej oraz ultra- i wysokosprawnej chromatografii cieczowej z różnymi sposobami detekcji (DAD, UV, MS). Kompleksowe badania nad doborem najistotniejszych warunków elektroforetycznych i chromatograficznych (m.in. rodzaju buforu separacyjnego, rodzaju fazy stacjonarnej, ruchomej, programu elucji gradientowej), umożliwiły otrzymanie metod analitycznych zdecydowanie efektywniejszych i szybszych, pozwalających na oznaczanie badanych ksenobiotyków na niskich poziomach stężeń (nawet terapeutycznych) w znacznie krótszym czasie analizy w porównaniu do procedur opisywanych dotychczas w literaturze przedmiotu.
  5. Wszystkie opracowane przeze mnie oryginalne procedury zostały poddane ocenie i weryfikacji zgodnie z protokołem walidacyjnym, obejmującym wyznaczenie licznych parametrów tj. zakres liniowości, powtarzalność, a także odtwarzalność metody analitycznej w oparciu m.in. o analizę materiałów referencyjnych, określone również zostały efekty matrycowe i szereg innych parametrów rutynowo wyznaczanych zgodnie z wytycznymi SWGTOX (Scientific Working Group for Forensic Toxicology, Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology).
  6. Każda z opracowanych metodyk została wielokrotnie przetestowana na rzeczywistym, ludzkim materiale biologicznym, zawierającym różne ksenobiotyki z wyżej wymienionej, obszernej grupy substancji, leków i ich metabolitów, w stężeniach terapeutycznych (od 2 ng/ml dla próbek płynu z jamy ustnej lub 10 ng/ml dla pozostałych materiałów biologicznych) bądź toksycznych powyżej 300 ng/ml. Przeprowadzane analizy udowodniły wiarygodność zastosowanych metod przygotowania i analizy materiału biologicznego. Opracowane metody, ponadto zostały już zastosowane w praktyce eksperckiej na zalecenie m.in. Zakładów Medycyny Sądowej, również do analizy materiału sekcyjnego w sprawach dotyczących podejrzenia obecności wyżej wymienionych ksenobiotyków.

Reasumując, przeprowadzone badania pozwoliły na opracowanie uniwersalnych narzędzi analitycznych tj. MAE/HPLC-DAD, MAE/UHPLC-UV MAE/UHPLC-MS-TOF, MEPS/UHPLC-MS-TOF, MAE/CE-MS-TOF pozwalających biegłemu sądowemu na analizę niewielkich próbek materiału biologicznego z wykorzystaniem m.in. tylko 15 µl próbki, a co najważniejsze na wiarygodną interpretację otrzymanych wyników badań. Opracowane metody mogą służyć ekspertyzie toksykologiczno-sądowej, jak również mogą zostać wykorzystane w praktyce klinicznej przy monitorowaniu terapii lekowych z wykorzystaniem klasycznych i alternatywnych materiałów biologicznych.

### **Zakończenie**

Realizacja zaprezentowanych w cyklu habilitacyjnym badań była możliwa dzięki otrzymanym środkom finansowym. Zasadnicze badania były finansowane z pozyskanych przeze mnie grantów w ramach programu: Iuventus Plus, w I edycji, wniosek pt. „Innowacyjna metoda przygotowania próbek materiału biologicznego do analizy toksykologiczno-sądowej” Nr 0461/H03/2010/70: 2011 r (jako kierownik projektu) oraz Iuventus Plus w II-giej edycji, wniosek pt. „Toksykologiczno-sądowa analiza materiałów biologicznych na obecność leków psychotropowych i substancji psychoaktywnych wchodzących w skład dopalaczy metodą CE-LIF/MS” Nr IP 2011 060071 (2012-2014), (jako kierownik projektu) oraz projektu unijnego w ramach programu POIG. "Mikro- i Nano-Systemy w Chemii i Diagnostyce Biomedycznej" Działanie 1.3. Wsparcie badań naukowych dla budowy gospodarki opartej na wiedzy, Poddziałanie 1.3.1. Projekty rozwojowe; współpraca UJ z IBIB (W-wa) - Lab-on-a-chip z detekcją elektrochemiczną do analizy próbek śliny na zawartość substancji psychoaktywnych (2008-2013), gdzie byłam wykonawcą projektu z ramienia Uniwersytetu Jagiellońskiego. Badania nad analizą ludzkiego szpiku kostnego rozpoczęłam dzięki obecnemu dofinansowaniu w ramach projektu, który pozyskałam - Sonata Bis 6 - wniosek pt. „Toksykinezyka ksenobiotyków w ludzkich tkankach: zintegrowane badania nad zachowaniem substancji psychoaktywnych w szpiku kostnym i alternatywnych materiałach sekcyjnych” Nr UMO-2016/22/E/ST4/00054 (2017-2021) (jako kierownik projektu). Badania w ramach projektu Sonata Bis 6 będą przeze mnie kontynuowane w najbliższej przyszłości i mają na celu rozwój wiedzy o farmako- i toksykokinetyce najważniejszych ksenobiotyków w ludzkim szpiku kostnym i innych materiałach alternatywnych m.in. ciała szklistym oka.

### **Literatura:**

1. [H1] M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, A. Garbacik, P. Kościelniak, J. Chromatogr. A, 2008, 1190, 52
2. [H2] R. Wietecha-Posłuszny, A. Garbacik, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, Anal. Bioanal. Chem., 2011, 399, 3233
3. [H3] R. Wietecha-Posłuszny, A. Garbacik, M. Woźniakiewicz, A. Moos, M. Wiczorek, P. Kościelniak, Anal. Bioanal. Chem., 2012, 402, 2249

4. [H4] R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, A. Garbacik, P. Chęsy, P. Kościelniak, J. Chromatogr. A, 2013, 1278, 22
5. [H5] M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, A. Moos, M. Wieczorek, P. Knihnicki, P. Kościelniak, J. Chromatogr. A, 2014, 1337, 9
6. [H6] A. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, J. Nowak, P. Kościelniak, J. Pharmaceut. Biomed., 2015, 108, 97
7. [H7] A. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, E. Bryczek, P. Kościelniak, J. Pharmaceut. Biomed., 2015, 111, 177
8. [H8] R. Wietecha-Posłuszny, S. Lendor, M. Garnysz, M. Zawadzki, P. Kościelniak, J. Chromatogr. B, 2017, 1061, 459
9. J. Namieśnik, Z. Jamrógiewicz, M. Pilarczyk, L. Toreres, WNT, W-wa 2000
10. M. Nakamura, Biomed. Chromatogr. 2011, 25, 1283
11. R.J. Flanagan, A. Taylor, J. D. Watson, R. Whelpton, Wiley, New Jersey 2007,
12. R.H. Liu, D.E. Gadzala, American Chemical Society, Washington 1997, 22, 26
13. B. Mendes, P. Silva, I. Mendonça, J. Pereira, J.S. Câmara, Talanta, 2013, 116, 164
14. Y. Gaillard, G. Pepin, J. Chromatogr. B, 1999, 733, 231
15. K.A. Borges, E.F. Freire, I. Martins, E.M.de Siqueira, Talanta, 2009, 78, 233
16. L. Zhang, S. Liu, X. Cui, C. Pan, A. Zhang, F. Chen, Cent. Eur. J. Chem., 2012, 10, 900
17. J.M. Keller, R.F. Swarthout, B.K.R Carlson, J. Yordy, A. Guichard, M.M. Schantz, J. R. Kucklick, Anal. Bioanal. Chem., 2009, 393, 747
18. K. Langel, T. Gunnar, K. Ariniemi, O. Rajamäki, P. Lillsunde, J. Chromatogr. B, 2011, 859
19. R. Staack, G. Fritschi, H. Maurer, J. Chromatogr. B, 2002, 773, 35
20. K. Ganzler, A. Salgo, K. Valko, J. Chromatogr. A, 1986, 371, 299
21. C.S. Eskilsson, E. Björklund, J. Chromatogr. A, 2000, 902, 227
22. M. Franke, Ch.L. Winek, H.M. Kingston, Forensic Sci. Int., 1996, 81, 51
23. M. Abdel-Rehim, J. Chromatogr. B, 2004, 801, 317
24. O.H. Drummer, J. Chromatogr. B, 1998, 713, 201
25. V.C. Jardim, L. de Paula Melo, D.S. Domingues, M. E. Costa Queiroz, J. Chromatogr. B, 2015, 974, 35
26. S. Magiera, J. Baranowski, J. Pharmaceut. Biomed., 2015, 109, 171
27. I.D. de Souza, D.S. Domingues, M.E.C. Queiroz, Talanta, 2015, 140, 166
28. R. Said, A. Pohanka, M. Abdel-Rehim, O. Becka, J. Chromatogr. B, 2012, 897, 42
29. M. Gfrerer, E. Lankmayr, Anal. Chim. Acta, 2005, 533, 203
30. E. Eljarrat, J. Caixach, J. Rivera, Chemosphere, 1998, 36, 2359
31. F.E. Achmed, TRAC-Trend. Anal. Chem., 2001, 20, 649
32. M. Abdel-Rehim, Z. Altun, L. Blomberg, J. Mass Spectrom., 2004, 39, 1488
33. E. Jagedero, M. Abdel-Rehim, J. Am. Soc. Mass Spectrom., 2009, 20, 891
34. F. Pragst, M. Rothe, J. Hunger, S. Thor, Forensic Sci. Int., 1997, 84, 225
35. P. Kinz, M. Villain, V. Cirimele, Ther. Drug Monitor., 2006, 28, 442
36. L.Ch. Winek, E.M. Moris, W. Wahaba, J. Anal. Toxicol., 1993, 17, 1993, 93
37. M. Franke, C.L. Winek, H.M. Kingston, Forensic Sci. Int., 1996, 81, 51
38. S. Hewimon, P. Pavasant, A. Shotipruk, Sep. Purif. Technol., 2007, 54, 44
39. K. Madej, A. Parczewski, M. Kała, Toxicol. Mech. Method., 2003, 13, 121
40. A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop, Pharmaceutical Press, Chicago 2004
41. V.A. Boumba, K.S. Ziavrou, T. Vougiouklakis, Int. J. Toxicol., 2006, 25, 143
42. P. Kintz, Anal. Bioanal. Chem., 2007, 388, 1467
43. P. Kintz, Forensic Toxicol., 2012, 30, 173
44. Society of Hair Testing, Forensic Sci. Int., 2004, 145, 83
45. R. Wietecha, P. Kościelniak, T. Lech, T. Kielar, Microchim. Acta, 2005, 149, 137
46. F. Pragst, M.A. Balikova, Clin. Chim. Acta, 2006, 370, 17
47. F. Pragst, M. Rothe, J. Hunger, S. Thor, Forensic Sci. Int. 1997, 84, 225
48. M. Shen, P. Xiang, H. Wu, B. Shen, Z. Huang, Forensic Sci. Int., 2002, 126, 153
49. P. Xiang, Q. Sun, B. Shen, P. Chen, W. Liu, M. Shen, Forensic Sci. Int., 2011, 204, 19
50. W. Seńczuk W., Toksykologia, PZWL, Warszawa 1994, 15-31, 232

51. S.L.C. Ferreira, W.N.L. Santos, C.M. Quintella, B.B. Neto, J.M. Bosque-Sendra, *Talanta*, 2004, 63, 1061
52. A.C. Duarte, S. Kapelo, *J. Liq. Chromatogr.*, 2006, 29, 1143
53. M. Laloup, M. del Mar Ramirez Fernandez, M. Wood, V. Maes, G. De Boeck, Y. Vanbeckevoort, N. Samyn, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, 388, 1545
54. C.L. Winek, W.W. Wahba, J. Winek, T.W. Balzer, 2001, *Forensic Sci. Int.*, 2001, 122, 107
55. R.A. Butler, J.L. Sheridan, *Harm Reduct. J.*, 2007, 4, 18
56. R. Gottardo, F. Tagliaro, F. Bortolotti, G. de Paoli, J.P. Pascali, I. Mikisik, *J. Chromatogr. A*, 2007, 1159, 185
57. S. Vogliardi, D. Favretto, M. Tucci, G. Stocchero, S.D. Ferrara, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011, 400, 51
58. G. Skopp, *Forensic Sci. Int.*, 2004, 142, 75
59. N. Cartiser, *Int. J. Legal Med.*, 2011, 125, 181
60. O. Drummer, Humana Press, New Jersey, 2008, 131
61. B.K. Matuszewski, M.L. Constanzer, C.M. Chavez-Eng, *Anal. Chem.*, 2003, 75, 3019
62. SWGTOX - A Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology, Revision 1, published May 20, 2013
63. K.K. McGrath, A.J. Jenkins, *Am. J. Forensic Med. Pathol.*, 2009, 30, 40
64. M. Tominaga, T. Michiue, M.T. Ishikawa, O. Kuwamoto, S. Oritani, K. Ikeda, M. Ogawa, H. Maeda, *J. Anal. Toxicol.*, 2013, 13, 423
65. E. Jagerdeo, M. Abdel-Rehim, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2009, 20, 891
66. S. Magiera, I. Baranowska, *J. Sep. Sci.*, 2014, 37, 3314
67. S. Rani, A. Kumar, A.K. Malik, B. Singh, *Chromatogr.*, 2011, 74, 235
68. M.A. Marinez, C. Sanchez de la Torre, E. Almarza, *J. Anal. Toxicol.* 2002, 26, 296
69. M.A. Marinez, C. Sanchez de la Torre, E. Almarza, *J. Anal. Toxicol.* 2003, 27, 353
70. E. Chudzikiewicz, P. Adamowicz, M. Kała, W. Lechowicz, E. Pufal, M. Sykutera, K. Śliwka, *Probl. Forensic Sci.*, 2005, 62, 166
71. B.E. Smink, A.C. Egberts, K.J. Lusthof, D.R. Uges, J.J. de Gier, *CNS Drugs*, 2010, 24/8, 639
72. M. Klichowska-Palonka, E. Pac-Kożuchowska, *Endokrynol. Ped.*, 2009, 27, 61
73. D. Szydlarska, W. Grzesiuk, A. Kupstas, E. Bard-Andziak, *Via Medica*, 2008, 454
74. J. K.M. Aps, L. C. Martens, *Forensic Sci. Int.*, 2005, 150, 119
75. C. Michael, J. Teichert, R. Preiss, *J. Chromatogr. B*, 2008, 865, 74
76. [www.uwhealth.org/healthfacts/diagnostic-tests/6948.pdf](http://www.uwhealth.org/healthfacts/diagnostic-tests/6948.pdf) 08.12.2017
77. A. de Castro, M. Concheiro, O. Quintela, A. Cruz, M. López-Rivadulla, *J. Pharmaceut. Biomed.*, 2008, 48, 183
78. M. Sergia, C. Montesano, S. Odoardi, L. Mainero Roccab, G. Fabrizi, D. Compagnone, R. Curinib, *J. Chromatogr. A*, 2013, 1301, 139



## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

### 5.1. Podsumowanie dorobku naukowego

1. Liczba publikacji opublikowanych w czasopismach z bazy Journal Citation Reports: **28**
2. Liczba publikacji opublikowanych w czasopismach z bazy Journal Citation Reports po uzyskaniu stopnia doktora: **27**
3. Sumaryczny IF (2017): **78,20**
4. Średni IF (2017): **2,8**
5. Suma pt. MNiSW = 952
6. Liczba wszystkich cytowań:  
wg Web of Science, dane z dn. 29.12.2017: **281** (bez autocytoowań: **248**)  
(wietecha-posluszny r or wietecka-posluszny r or wietecha r)
7. Indeks Hirscha H:  
a. Web of Science, dane z dn. 29.12.2017: **10**  
(wietecha-posluszny r or wietecka-posluszny r or wietecha r)
8. Autor korespondencyjny w publikacjach: **16**
9. Rozdziały w książkach: **11**
10. Liczba materiałów konferencyjnych w czasopismach posiadających IF: **6\***
11. Liczba projektów badawczych krajowych i międzynarodowych: **8**, w tym kierownik (NCN, NCBiR, MNiSW): **5**; wykonawca: **3**
12. Liczba projektów innych i dydaktycznych: **9**, w tym kierownik: **2**; wykonawca: **7**
13. Wykłady na zaproszenie wygłoszone przez habilitanta: **4**
14. Prezentacje ustne wygłoszone osobiście: **34**
15. Współautorstwo wystąpień konferencyjnych - prezentacje ustne: **68**, postery: **42**
16. Recenzje: **21** publikacji naukowych dla: *Journal of Chromatography A*(7), *Journal of Chromatography B* (1), *Forensic Science International* (6), *Journal of Forensic Science* (1), *Analytical Letters* (3), *Talanta* (3).

\*Sumaryczny IF = **94,6** oraz suma pt. MNiSW = **1177** habilitanta z uwzględnieniem proceedings w wydaniach konferencyjnych czasopism z bazy Journal Citation Reports

### 5.2. Publikacje stanowiące dorobek naukowy (poza cyklem publikacji wymienionym w punkcie 4.2), po uzyskaniu stopnia doktora, opublikowane w czasopismach z bazy Journal Citation Reports

\* – oznaczenie autora do korespondencji

IF – podano bieżący na 2017 wg JCR

cyt. = liczba cytowań wg Web of Science z dnia 26.06.2017

L.p.		IF; cyt.
	<b>R. Wietecha</b> , P. Kościelniak, T. Lech, T. Kielar,	4,831; 25
9	„Simple method for simultaneous determination of selenium and arsenic in human hair by means of atomic fluorescence spectrometry with hydride generation technique”	

	<i>Microchimica Acta</i> , 149, 137-144, (2005), <i>Lista MNiSW</i> : 40	
	Udział własny: 85% zaplanowanie i wykonanie analiz próbek włosów metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej, mineralizacja próbek oraz interpretacja wyników, sporządzenie i redakcja manuskryptu, rycin i tabel	
	<b>R. Wietecha-Posluszny</b> , J. Dobrowolska, P. Kościelniak,	1,088; 7
10	„Method for determination of selenium and arsenic in human urine by atomic fluorescence spectrometry” <i>Analytical Letters</i> , 39, 2787-2796, (2006), <i>Lista MNiSW</i> : 15	
	Udział własny: 85% zaplanowanie i optymalizacja metody oznaczania selenu i arsenu, wykonanie analiz próbek materiału biologicznego metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej, mineralizacja próbek oraz interpretacja wyników, sporządzenie i redakcja manuskryptu, rycin i tabel	
	P. Zagrodzki, R. Ratajczak, <b>R. Wietecha-Posluszny</b> ,	1,798; 10
11	„The interaction between selenium status, sex hormones, and thyroid metabolism in adolescent girls during luteal phase of menstrual cycle” <i>Biological Trace Element Research</i> , 60, 51-60 (2007), <i>Lista MNiSW</i> : 15	
	Udział własny: 20% zaplanowanie i optymalizacja metody oznaczania selenu, wykonanie analiz próbek materiału biologicznego metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej, mineralizacja próbek oraz interpretacja wyników, opis przeprowadzonych badań do manuskryptu.	
	M. Zadrozna, M. Gawlik, B. Nowak, A. Marcinek, H. Mrowiec, S. Walas, <b>R. Wietecha-Posluszny</b> , P. Zagrodzki,	2,550; 26
12	„Antioxidants activities and concentration of selenium, zinc and copper in preterm and IUGR human placentas” <i>Journal of Trace Elements in Medicine and Biology</i> , 23,144-148 (2009), <i>Lista MNiSW</i> : 20	
	Udział własny: 15% zaplanowanie i optymalizacja metody oznaczania mikroelementów, wykonanie analiz próbek materiału biologicznego metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej, interpretacja wyników, opis przeprowadzonych badań do manuskryptu	
	<b>R. Wietecha-Posluszny*</b> , J. Dobrowolska-Iwanek, P. Kościelniak, P. Zagrodzki,	1,167; 3
13	„Determination of selenium as a biomarker of thyroid cancer by HG-AFS method” <i>Acta Chimica Slovenica</i> , 56, 441-446 (2009), <i>Lista MNiSW</i> : 20	
	Udział własny: 85% zaplanowanie koncepcji badań, mineralizacja tkanek, wykonanie analiz próbek materiału biologicznego metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej, interpretacja wyników, opis przeprowadzonych badań, redakcja manuskryptu, korespondencja i odpowiedzi do recenzentów i edytora.	

14	<p>M. Filek, M. Zembala, H. Hartikaine, Z. Miszalski, A. Kornaś, <b>R. Wietecha-Posluszny</b> (R. Wietecha-Posluszny), S. Walas</p> <p>„Changes in wheat plastid membrane properties induced by cadmium and selenium in presence/absence of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid”</p> <p><i>Plant Cell Tissue and Organ Culture</i>, 2009, 96, 19-28, <i>Lista MNiSW</i>: 30</p> <p>Udział własny: 10% badanie próbek roślinnych na obecność selenu, wykonanie analiz i interpretacja otrzymanych wyników</p>	2,390; 36
15	<p>P. Zagrodzki, F. Nicol, J. R. Arthur, M. Słowiacek, S. Walas, H. Mrowiec, <b>R. Wietecha-Posluszny</b>,</p> <p>„Selenoenzymes, laboratory parameters, and trace elements in different types of thyroid tumor”</p> <p><i>Biological Trace Element Research</i>, 134, 25-40 (2010), <i>Lista MNiSW</i>: 15</p> <p>Udział własny: 10% mineralizacja tkanek, wykonanie analiz próbek materiału biologicznego metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej, interpretacja wyników, opis przeprowadzonych badań do manuskryptu</p>	1,798; 12
16	<p>M. Szafarska, A. Solarz, <b>R. Wietecha-Posluszny</b>, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak,</p> <p>„Extraction of colour inkjet printing inks from printouts for forensic purpose”</p> <p><i>Acta Chimica Slovenica</i>, 57, 963-971 (2010), <i>Lista MNiSW</i>: 20</p> <p>Udział własny: 20%, opracowanie koncepcji badań, opieka nad magistrantem wykonującym badania, interpretacja wyników, współredagowanie manuskryptu</p>	1,167; 6
17	<p><b>R. Wietecha-Posluszny*</b>, T. Lech, P. Kościelniak,</p> <p>„Application of three spectrometric methods to total selenium determination in postmortem material in a case of acute selenium compound poisoning”</p> <p><i>Journal of Forensic Sciences</i>, 56, 518-521 (2011), <i>Lista MNiSW</i>: 20</p> <p>Udział własny: 45% zaplanowanie koncepcji badań, mineralizacja tkanek sekcyjnych, dobór metody, wykonanie analiz próbek materiału biologicznego metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej, interpretacja wyników, opis przeprowadzonych badań, redakcja manuskryptu, korespondencja i odpowiedzi do recenzentów i edytora.</p>	1,322; 1
18	<p>M. Szafarska, <b>R. Wietecha-Posluszny</b>, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak,</p> <p>„Application of capillary electrophoresis to examination of colour inkjet printing inks for forensic purposes”</p> <p><i>Forensic Science International</i>, 212, 78-85, (2011), <i>Lista MNiSW</i>: 40</p> <p>Udział własny: 10% koordynowanie badań kierowanego projektu NCBiR, analiza wyników rozdziałów elektroforetycznych oraz współredagowanie manuskryptu</p>	1,950; 19

19	<p>M. Szafarska, <b>R. Wietecha-Posluszny</b>, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, 4,035; 15</p> <p>„Examination of colour inkjet printing inks by capillary electrophoresis”</p> <p><i>Talanta</i>, 84, 1234-1243 (2011), <i>Lista MNiSW</i>: 40</p> <p>Udział własny: 10% koordynowanie badań kierowanego projektu NCBiR, interpretacja wyników oraz współredagowanie manuskryptu</p>
20	<p>A. Jaworska, <b>R. Wietecha-Posluszny</b>, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, K. Małek, 4,033;6</p> <p>„Evaluation of the potential of Surface Enhancement Raman Spectroscopy for detection of tricyclic psychotropic drugs. Case studies on imipramine and its metabolite”</p> <p><i>Analyst</i>, 136, 4704-4709 (2011), <i>Lista MNiSW</i>: 40</p> <p>Udział własny: 10% obliczenia i interpretacja wyników walidacji. Redakcja fragmentu manuskryptu dotyczącego parametrów walidacyjnych oraz dyskusja wyników.</p>
21	<p>M. Król, A. Kula, <b>R. Wietecha-Posluszny</b>, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, 4,035; 8</p> <p>„Examination of black inkjet printing inks by capillary electrophoresis”</p> <p><i>Talanta</i>, 96, 236-242 (2012), <i>Lista MNiSW</i>: 40</p> <p>Udział własny: 10% Opracowanie koncepcji badań w ramach kierowanego projektu NCBiR, analiza otrzymanych wyników elektroforetycznych.</p>
22	<p>P. Knihnicki, M. Wiczorek, A. Moos, P. Kościelniak, <b>R. Wietecha-Posluszny</b>, M. Woźniakiewicz, 4,758; 4</p> <p>„Electrochemical sensor for determination of desipramine in biological material”</p> <p><i>Sensors and Actuators B: Chemical</i>, <i>Sensors and Actuators B</i>, 189, 37-42 (2013), <i>Lista MNiSW</i>: 40</p> <p>Udział własny: 5% zaprojektowanie próbek surogatu z dezypraminą do badań elektrochemicznych oraz analiza i interpretacja otrzymanych wyników.</p>
23	<p>A. Kula, <b>R. Wietecha-Posluszny*</b>, K. Pasionek, M. Król, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, 1,959; 10</p> <p>„Application of laser induced breakdown spectroscopy to examination of writing inks for forensic purposes”</p> <p><i>Science and Justice</i>, 54 (2), 118-125 (2014), <i>Lista MNiSW</i>: 30</p> <p>Udział własny: 25% koncepcja badań w ramach kierowanego grantu, opieka nad magistrantem wykonującym analizy za pomocą spektrometru LIBS, opracowanie sposobu interpretacji</p>

	widm pierwiastkowych, redakcja manuskryptu, korespondencja oraz odpowiedzi na pytania edytorów i recenzentów.	
	A. Kula, M. Król, <b>R. Wietecha-Posluszny</b> , M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak,	4,035; 7
24	„Application of CE-MS to examination of black inkjet printing inks for forensic purposes” <i>Talanta</i> , 128, 92-101 (2014), <i>Lista MNiSW</i> : 40  Udział własny: 20% koncepcja badań w ramach kierowanego grantu, kolekcja próbek atramentów drukowanych, interpretacja wyników otrzymanych za pomocą zoptymalizowanej metody CE-MS, pomoc przy redakcji manuskryptu.	
	P. Paško, J. Gdula-Argasinska, J. Podporska-Carroll, B. Quilty, <b>R. Wietecha-Posluszny</b> , M. Tyszka-Czochara, P. Zagrodzki,	1,241; 2
25	„Influence of selenium supplementation on fatty acids profile and biological activity of four edible amaranth sprouts as new kind of functional food” <i>Journal of Food Science and Technology</i> , 52, 8, 4724-4736 (2015), <i>Lista MNiSW</i> : 25  Udział własny: 5% wykonanie analiz na obecność selenu próbek roślinnych, dobór wzorców oraz oznaczenie ilościowe, opracowanie tabel i wyników publikacji.	
	M. Tyszka-Czochara, P. Pasko, P. Zagrodzki, E. Gajdzik, <b>R. Wietecha-Posluszny</b> , Shela Gorinstein,	1,798; 10
26	„Selenium Supplementation of Amaranth Sprouts Influences Betacyanin Content and Improves Anti-Inflammatory Properties via NFκB in Murine RAW 264.7 Macrophages” <i>Biological Trace Element Research</i> , 2, 169, 320–330 (2016), <i>Lista MNiSW</i> : 15  Udział własny: 15% wykonanie oznaczania selenu w próbkach materiału biologicznego, interpretacja otrzymanych poziomów stężeń, opracowanie danych, współredakcja manuskryptu.	
	P. Zagrodzki, M. Krzyczkowska-Sendrakowska, F. Nicol, <b>R. Wietecha-Posluszny</b> , T. Milewicz, J. Kryczyk-Kozio, Z. Chaykivska, R. Jach	3,225;0
27	„Selenium status parameters in patients with polycystic ovary syndrome”  <i>Journal of Trace Elements in Medicine and Biology</i> , 44, 241-246 (2017), <i>Lista MNiSW</i> : 20  Udział własny: 15% wykonanie oznaczania selenu w próbkach surowicy pacjentów metodą AFS, interpretacja otrzymanych poziomów stężeń, opracowanie danych, współredakcja manuskryptu	
<b>Suma IF<sub>2017</sub> = 49,18</b>		
<b>Suma pt. MNiSW = 525</b>		

### 5.2.1. Proceedings w wydaniach konferencyjnych czasopism z bazy Journal Citation Reports po uzyskaniu stopnia doktora

Lp.		IF
P1	<p><b>R. Wietecha-Posluszny*</b>, M. Woźniakiewicz, A. Garbacik, P. Kościelniak,</p> <p>„Microwave-assisted liquid-liquid extraction of psychotropic drugs from human serum”</p> <p><i>Toxicology Letters 205S (2011) S180-S300, Lista MNiSW: 35</i></p> <p>Udział własny: 45% opracowanie otrzymanych wyników, sporządzenie tabel, współredakcja tekstu</p>	3,522
P2	<p><b>R. Wietecha-Posluszny*</b>, M. Woźniakiewicz, A. Garbacik, K. Madej P. Kościelniak,</p> <p>Advances in the sample preparation techniques of human body fluids in toxicological analysis”,</p> <p><i>Toxicology Letters 205S (2011) S180-S300, Lista MNiSW: 35</i></p> <p>Udział własny: 30% opracowanie otrzymanych wyników, sporządzenie tabel, współredakcja tekstu</p>	3,522
P3	<p><b>R. Wietecha-Posluszny*</b>, A. Moos, A. Bocheńska, P. Kościelniak,</p> <p>„Lachrymal fluid as an alternative biological matrix for toxicological purpose”</p> <p><i>Toxicology Letters 229S, S40-S252 (2014), Lista MNiSW: 35</i></p> <p>Udział własny: 55% koncepcja badań, optymalizacja metody MEPS/LC-MS, opracowanie i prezentacja wyników</p>	3,522

**Suma IF<sub>2017</sub> = 10,566**  
**Suma pt. MNiSW = 105**

### 5.2.2. Publikacje inne niż z listy czasopism z bazy Journal Citation Reports po uzyskaniu stopnia doktora

28. **R. Wietecha-Posluszny\***, A. Bednarek, J. Dobrowolska, P. Kościelniak, A. Morawska, W. Piekoszewski, J. Chrostek-Maj, „Determination of selenium and arsenic in blood and urine of patients taking a part in methadon program”, *Problems of Forensic Science*, 63, 259-265, (2005). Lista MNiSW: 14

Udział własny: 55% koncepcja badań, wstępne wyselekcjonowanie pacjentów, opracowanie ankiety badania, oznaczenie selenu i arsenu w materiałach pobranych od pacjentów, zredagowanie manuskryptu, korespondencja z edytorem i recenzentami.

29. A. Morawska, **R. Wietecha-Posluszny**, J. Chrostek-Maj, B. Bystrowska, B. Groszek, „Evaluation of zinc and copper status in opiate-addicts undergoing a long-term methadone

treatment - some preliminary observations”, *Overview of Medicine*, 63, 6, 403-405, (2006).  
Lista MNiSW: **10**

Udział własny: 20% opracowanie wyników otrzymanych po analizie materiału biologicznego, sporządzenie rycin zamieszczonych w manuskrypcie.

30. M. Brindell, I. Maciejowska, J. Mania, **R. Wietecha-Posłuszny**, P. Yates, „Residential Course, A New Proposal for Academic Teachers Training”, *Annals of the Polish Chemical Society, Annals of Polish Chemical Society*, 27-30, (2007).

Udział własny: 20% opracowanie nowoczesnych technik nauczania opartych na zagadnieniach PBL, opracowanie manuskryptu.

31. **R. Wietecha-Posłuszny\***, M. Woźniakiewicz, A. Garbacik, P. Kościelniak, „Application of microwave-assisted extraction in isolation of psychotropic drugs from biological material”, *Problems of Forensic Science*, 70, 187-197 (2007). Lista MNiSW: **14**

Udział własny: 55% opracowanie i dobór odczynników ekstrakcyjnych do izolacji leków z matrycy biologicznej, dobór parametrów promieniowania mikrofalowego, opracowanie manuskryptu

32. **R. Wietecha-Posłuszny\***, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, „Application of microwave assisted-techniques to sample preparation in forensic and clinical analysis”, *Problems of Forensic Science*, 73, 30-43, (2008) – Review. Lista MNiSW: **14**

Udział własny: 35% opracowanie przeglądu nowoczesnych metod stosowanych w procesie przygotowania materiału biologicznego, analiza zalet i wad zastosowania promieniowania mikrofalowego na etapie izolacji analitów z złożonej matrycy, ocena efektów interferencyjnych oraz parametrów analitycznych.

33. M. Szafarska, **R. Wietecha-Posłuszny\***, M. Woźniakiewicz, C. Hughes, P. Kościelniak, „Influence of storage conditions on ageing of colour dye-based inkjet printing inks”, *Problems of Forensic Sciences*, 82, 133-140 (2011). Lista MNiSW: **14**

Udział własny: 20% opieka promotorska nad studentem wykonującym analizy barwników naniesionych na podłoże oraz dobór warunków starzeniowych dla próbek, korekta manuskryptu, korespondencja z edytorem i recenzentami.

34. M. Ciechomska, M. Woźniakiewicz, **R. Wietecha-Posłuszny**, „Activity and biotransformation of three synthetic “legal highs”: mephedrone, methylone and 3,4-methylenodioxypyrovalerone”, *Problems of Forensic Sciences*, 89, 71-85 (2012) – Review. Lista MNiSW: **14**

Udział własny: 10% koncepcja pracy przeglądowej, korekta manuskryptu, odpowiedzi do recenzentów.

35. P. Knihnicki, M. Wieczorek, M. Bienias, **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, Electrochemical sensor for determination of desipramine in biological materials, *Procedia Engineering*, 47, 1342-1345, (2012). SNIP=0.629

Udział własny: 5% opracowanie metodyki sporządzenia matrycy surogatowej, analiza wyników i interpretacja otrzymanych poziomów stężeń

36. A. Moos, **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, V. Brode, P. Kościelniak, Preliminary development of methodology for the analysis of oral cavity fluid for selected psychotropic drugs”, *Problems of Forensic Sciences*, 96, 740-751 (2013). Lista MNiSW: 14

Udział własny: 35% opracowanie koncepcji manuskryptu, opieka nad studentem wykonującym analizy, opracowanie metodyki MEPS, analiza otrzymanych wyników poziomów ekstrakcji oraz stężeń, odpowiedzi do recenzentów.

**Suma pt. MNiSW = 94**

### 5.3. Publikacje stanowiące dorobek naukowy (poza cyklem publikacji wymienionym w punkcie 4.2) przed uzyskaniem stopnia doktora, opublikowane w czasopismach z bazy Journal Citation Reports

L.p.	IF; cyt
37	1,088; 5
P. Kościelniak, <b>R. Wietecha</b> , „A critical look at the recovery method as the way for evaluation of the analytical accuracy”, <i>Analytical Letters</i> , 36, 861-870, (2003), Lista MNiSW: 15 Udział własny: 80% analiza materiału biologicznego, badanie efektów interferencyjnych od matrycy po mineralizacji, opracowanie wyników, sporządzenie tabel i rycin do manuskryptu.	

**Łączny IF<sub>2017</sub> = 1,088**  
**Suma pt. MNiSW = 15**

#### 5.3.1. Proceedings w wydaniach konferencyjnych czasopism z bazy Journal Citation Reports przed uzyskaniem stopnia doktora

P4	<b>R. Wietecha*</b> , T. Lech, P. Kościelniak „Application of three spectrometric methods to post-mortem examination of acute selenium poisoning” 1,950;1
----	--



	<i>Forensic Science International</i> , S136, 306-307, (2003), <i>Lista MNiSW</i> : 40 Udział własny: 40% analiza wycinków pobranych materiałów biologicznych metoda atomowej spektrometrii fluorescencyjnej, analiza wyników.	
P5	<b>R. Wietecha*</b> , J. Mania, M. Woźniakiewicz, K. Madej, I. Maciejowska „Is this last will fraudulent? - An experiment for the forensic chemistry laboratory Course for Undergraduate Students” <i>Forensic Science International</i> , S136, 182-183, (2003), <i>Lista MNiSW</i> : 40 Udział własny: 20% koncepcja projektu, przeprowadzenie eksperymentu.	1,950;1
P6	K. Madej, M. Woźniakiewicz, <b>R. Wietecha*</b> „Application of capillary electrophoresis techniques to the forensic analysis of the tricyclic psychotropic drugs” <i>Forensic Science International</i> , S136, 304-305, (2003), <i>Lista MNiSW</i> : 40 Udział własny: 5% zestawienie danych literaturowych dotyczących oznaczania leków psychotropowych.	1,950;1

**Łączny IF<sub>2017</sub> = 5,85**  
**Suma pt. MNiSW = 120**

### 5.3.2. Publikacje inne niż z listy czasopism z bazy Journal Citation Reports przed uzyskaniem stopnia doktora

38. **R. Wietecha\***, R. Stanaszek, „Determination of morphine, codeine and 6-monoacetylmorphine in hair of addicted persons”, *Problems of Forensic Sciences*, 49, 38-47, (2002). *Lista MNiSW*: **14**

Udział własny: 90% opracowanie koncepcji manuskryptu, wykonanie wszystkich analiz próbek włosów, analiza otrzymanych wyników oraz interpretacja danych, opis doświadczeń, opracowanie odpowiedzi do recenzentów.

39. **R. Wietecha\***, P. Kościelniak, T. Lech, M. Rymanowski, „Determination of selenium in human blood using atomic fluorescence spectrometry”, *Problems of Forensic Sciences*, 55, 21-36, (2002). *Lista MNiSW*: **14**

Udział własny: 70% opracowanie koncepcji manuskryptu, wykonanie analiz próbek krwi, analiza otrzymanych wyników oraz interpretacja danych, opis doświadczeń, opieka nad studentem wykonującym część badań, opracowanie odpowiedzi do recenzentów.

**Suma pt. MNiSW = 28**

#### 5.4. Rozdziały w książkach lub monografiach

1. P. Zagrodzki, R. Ratajczak, **R. Wietecha-Posłuszny**, "Selenium Status and Hormone Interaction in Adolescent Girls - a Second Evaluation of Clinical Parameters", rozdział w książce: [Eds] D. Zuba, A. Parczewski "Chemometrics - methods and applications", **Wydawnictwo IES**, Kraków 2006, 287-290

Udział własny: 40% opracowanie koncepcji manuskryptu, wykonanie analiz próbek surowicy, analiza otrzymanych wyników oraz interpretacja danych, opis doświadczeń związanych z pomiarem selenu.

2. A. Garbacik, **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, "Zastosowanie ekstrakcji mikrofalowej do wyosabniania leków psychotropowych z włosów" [w] H. Koroniak, J. Barciszewski, Na pograniczu chemii i biologii, **Wydawnictwo Naukowe UAM**, Poznań 2008, tom XXI, 183 – 189

Udział własny: 40% opracowanie koncepcji badań i manuskryptu, wykonanie analiz próbek po ekstrakcji, analiza otrzymanych wyników oraz interpretacja danych, opis doświadczeń związanych z pomiarem poziomu leków, odpowiedzi na uwagi recenzentów.

2. D. Nowak-Adamczyk, M. Ziemnicka, M. Perdeus-Białek, **R. Wietecha-Posłuszny** „Wyrównywanie szans – osoby niepełnosprawne na studiach przyrodniczych”, rozdział w książce [w] I. Maciejowska (red.) „Jak kształcić studentów chemii i kierunków pokrewnych? Podręcznik nauczyciela akademickiego”, Kraków 2008, 166-176

Udział własny: 40% opracowanie koncepcji rozdziału i tekstu. Przeprowadzenie wywiadów z osobami niepełnosprawnymi, analiza nagrań. Redakcja rozdziału, opis wybranych tez dotyczących kształcenia studentów niepełnosprawnych oraz opracowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

3. **R. Wietecha-Posłuszny** „Analiza materiału biologicznego – jednoczesne oznaczanie selenu i arsenu metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej”, rozdział w książce [w] I. Maciejowska (red.) „Jak kształcić studentów chemii i kierunków pokrewnych? Podręcznik nauczyciela akademickiego”, **Wydawnictwo UJ**, Kraków 2008, 227-229

Udział własny: 100% opracowanie koncepcji manuskryptu, opis eksperymentów jakie student musi wykonać oraz metod dydaktycznych stosowanych przez prowadzącego zajęcia, wykonanie analizy i oceny przydatności technik dydaktycznych, odpowiedzi na uwagi recenzentów.

4. **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, „Regulamin ćwiczeń laboratoryjnych – przykład. Laboratorium Chemia analityczna II, rozdział w książce [w] I. Maciejowska (red.) „Jak kształcić studentów chemii i kierunków pokrewnych? Podręcznik nauczyciela akademickiego”, **Wydawnictwo UJ**, Kraków 2008, 240-245

Udział własny: 50% utworzenie koncepcji manuskryptu, opis poszczególnych punktów regulaminu dotyczącego pracy laboratoryjnej dostosowanych do wybranego kursu z

zakresu Chemii analitycznej II, opracowanie poprawek i odpowiedzi na uwagi recenzentów.

5. M. Szafarska, W. Kornobis, **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, Paweł Kościelniak, Kryminalistyczne badania dokumentów - ekstrakcja czarnych atramentów drukarkowych, [w] H. Koroniak, J. Barciszewski, Na pograniczu chemii i biologii, **Wydawnictwo Naukowe UAM**, Poznań 2009, tom XXIII, 13-22

Udział własny: 25% opracowanie koncepcji manuskryptu i planu badawczego z zakresu badania dokumentów. Opracowanie techniki ekstrakcji materiałów kryjących, opieka nad studentem wykonującym badania w ramach pracy magisterskiej, redagowanie manuskryptu, opracowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

6. A. Garbacik, M. Woźniakiewicz, **R. Wietecha-Posłuszny**, P. Kościelniak, Włosy jako materiał alternatywny w analizie toksykologiczno-sądowej, [w] H. Koroniak, J. Barciszewski, Na pograniczu chemii i biologii, **Wydawnictwo Naukowe UAM**, Poznań 2009, tom XXIII, 23-30

Udział własny: 25% opracowanie koncepcji manuskryptu i planu badawczego z zakresu badania dokumentów. Opracowanie techniki wstępnej procedury oczyszczania i ekstrakcji próbek włosów pobranych od pacjentów, opieka nad doktorantem wykonującym badania eksperymentalne, redagowanie manuskryptu, opracowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

7. P. Knihnicki, M. Wieczorek, **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, A. Garbacik, P. Kościelniak, Ślina jako materiał alternatywny w analizie toksykologiczno-sądowej, [w] H. Koroniak, J. Barciszewski, Na pograniczu chemii i biologii, **Wydawnictwo Naukowe UAM**, Poznań 2010, tom XXV, 47-54, ISBN 978-83-232-2254-5

Udział własny: 25% opracowanie planu badawczego z zakresu badania próbek śliny. Opracowanie części dotyczącej przygotowania próbek śliny do analiz toksykologiczno-sądowych, redagowanie manuskryptu, opracowanie odpowiedzi na uwagi i pytania recenzentów.

8. A. Solarz, M. Szafarska, **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, Elektroforeza kapilarna w połączeniu z ekstrakcją w punkcie zmętnienia jako metoda analizy atramentów drukarkowych, [w] H. Koroniak, J. Barciszewski, Na pograniczu chemii i biologii, **Wydawnictwo Naukowe UAM**, Poznań 2010, tom XXV, 147-154, ISBN 978-83-232-2254-5

Udział własny: 20% opracowanie koncepcji manuskryptu i planu badawczego z zakresu ekstrakcji atramentów drukarkowych. Opracowanie techniki ekstrakcji materiałów kryjących, opieka nad studentem wykonującym badania w ramach pracy magisterskiej, współredagowanie manuskryptu.

9. I. Maciejowska, **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, Application of Case Study and Role-Playing in Forensic Chemistry and Analytical Chemistry Education: Students', Graduates' and Teachers' Points of View, 287-301;

Red. Iztok Devetak, Saša Aleksij Glažar, Learning with Understanding in the Chemistry Classroom (2014) **Springer**

Udział własny: 35% opracowanie koncepcji manuskryptu oraz opisanych metod dydaktycznych, wprowadzenie metod CS i RP w praktyce, ocena przebiegu wprowadzonej innowacji, opis rezultatów badań, przeprowadzenie wywiadów oraz współredagowanie manuskryptu. Opracowanie poprawek i odpowiedzi do recenzentów.

10. Alicja Majda, Magdalena Świądro, **Renata Wietecha-Posłuszny**, Paweł Kościelniak, Dried blood spot sampling – a new trend in psychotropic drug monitoring; Na pograniczu chemii i biologii tom XXXVI, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań 2016, 211-217

Udział własny: 60% opracowanie koncepcji metody DBS oraz planu manuskryptu. Opracowanie przeglądu metod separacyjnych stosowanych w analizie DBS. Opracowanie tabel. Opracowanie poprawek i odpowiedzi do recenzentów.

11. M. Woźniakiewicz, M. Król, R. Wietecha-Posłuszny, Application of Capillary Electrophoresis to Forensic Analysis, Chapter 23, Flow and Electrophoretic Analysis, Red. Paweł Kościelniak & Marek Trojanowicz, Nova Science Publishers, Inc. 2017 (USA) w trakcie druku

Udział własny: 25% opracowanie i opis całości rozdziału *Psychotropic drugs in biological materials*. Opracowanie tabel i rysunków oraz tekstu. Opracowanie poprawek i odpowiedzi do recenzentów.

## 6. Udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych

1. XVIII Konferencja Toksykologów Sądowych, Jastrzębia Góra, 31maja - 1 czerwca 2001 r.; komunikat pt. R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak „Oznaczenie selenu i arsenu we krwi metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej”.
2. VII Konwersatorium Absorpcji Atomowej i Konwersatorium Optycznej Spektrometrii Emisyjnej, Ustroń, 17-19 września 2001 r.; komunikat pt. R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak „Zastosowanie metody atomowej spektrometrii fluorescencyjnej (ASF) do oznaczenia selenu i arsenu we krwi”.
3. XI Poznańskie Konwersatorium Analityczne i Szkoła Naukowa, Poznań, 3-5 kwietnia 2002 r.; poster, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, pt. „Atomowa spektrometrii fluorescencyjna w badaniach toksykologicznych”.
4. Wiosenne Konwersatorium 2002, Katowice, 23 maja 2002 r.; poster pt. „Opracowanie procedury mineralizacji materiału biologicznego pod kątem oznaczania selenu metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej”.
5. XIX Konferencja Toksykologów Sądowych, Augustów 23-24 maja 2002 r.; komunikat pt. R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak „Procedura oznaczania selenu w krwi ludzkiej z wykorzystaniem atomowej spektrometrii fluorescencyjnej”.
6. XLV Zjazd PTChem, Kraków, 9-13 września, 2002 r.;

- a) Poster: R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, pt. „Krytyczne spojrzenie na metodę odzysku jako sposób oceny dokładności wyników analitycznych”,
- b) Komunikat: R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, M. Woźniakiewicz, I. Maciejowska, pt. „Z archiwum X - spotkanie w panelu Chemia Sądowa”.
7. 3<sup>rd</sup> SENSPOL Workshop “Sensors for Monitoring Water Pollution from Contaminated Land, Landfills and Sediments”, Kraków, 3-6 czerwca 2003 r.; udział w organizacji, uczestnictwo bez prezentacji.
8. XX Konferencja Toksykologów Sądowych, Niedzica, 12-13 czerwca 2003 r.; komunikat: R. Wietecha-Posłuszny, T. Kielar, P. Kościelniak, pt. „Oznaczania selenu i arsenu w różnych materiałach biologicznych metodą AFS-HG”.
9. II Konferencja „Chemometria – metody i zastosowania”, Zakopane, 16-19 października 2003 r.; poster: R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, pt. „The example of application of partial least-squares method into medical problem”.
10. III European Academy of Forensic Science Meeting, Stambuł, Turcja, 22-27 września 2003 r.;
  - a) poster pt. „Is this last will fraudulent? – An experiment for the forensic chemistry laboratory course for undergraduate students”,
  - b) poster pt. „Application of capillary electrophoresis techniques to the forensic analysis of the tricycles psychotropic drugs”,
  - c) poster pt. „Application of three spectrometric methods to post-mortem examination of acute selenium poisoning”.
11. Jesienne Konwersatorium 2003, Kraków, 20 listopada 2003 r.; Komunikat: R. Wietecha-Posłuszny, T. Kielar, P. Kościelniak pt. „Zastosowanie atomowej spektrometrii fluorescencyjnej (AFS) do oznaczania arsenu i selenu we włosach ludzkich”.
12. 13-th International Symposium „Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism”, Kraków, 3-4 czerwca 2004 r.; poster pt. „Selenium status in patients with pathologically altered thyroid gland”.
13. European Conference on Analytical Chemistry “Euroanalysis XIII”, Salamanca, Hiszpania, 5-10 września 2004 r.; poster pt. „Application of atomic fluorescence spectrometry with hydride generation to the determination of selenium and arsenic in human plasma and urine”.
14. Konferencja “Variety in Chemistry Education”, Plymouth, Anglia, 5-7 września, 2004 r.;
  - a) komunikat pt. „Bank robbery ?? - example of forensic chemistry training”,
  - b) poster pt. „Document examination - an experiment for the forensic chemistry laboratory course for undergraduate students”.
15. XII Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii, Kraków, 15-17 września, 2004 r.; .  
Poster: R. Wietecha-Posłuszny, B. Bujak-Giżycka, P. Kościelniak pt. „Zastosowanie atomowej spektrometrii fluorescencyjnej na przykładzie ostrego zatrucia arsenikiem”.
16. Jesienne Konwersatorium 2004, Łódź, 21 listopada 2004 r.; komunikat: R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, P. Zagrodzki, pt. „Zastosowanie nowej procedury oznaczania selenu i arsenu metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej do badań klinicznych i toksykologicznych ”
17. Wiosenny Zjazd Sekcji Studenckiej PTCH, Góry Sowie, 12-16 kwietnia 2005r.; komunikat: J. Dobrowolska, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak pt. „ Oznaczanie selenu i arsenu w moczu metodą HG-AFS”. – wyróżnienie
18. XXII Konferencja Toksykologów Sądowych, Popowo, 5-6 maja 2005 komunikat: R. Wietecha-Posłuszny, A. Bednarek, P. Kościelniak, A. Morawska, W. Piekoszewski, J.

- Chrostek-Maj, pt. „Analiza krwi i moczu na zawartość selenu i arsenu u pacjentów objętych programem metadonowym”
19. Konferencja Analityczna, Toruń, 4-8 lipca 2005 r.; plakat: J. Dobrowolska, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, A. Bednarek, pt. „Metoda oznaczania selenu i arsenu we krwi i moczu dla potrzeb toksykologii klinicznej”
  20. European Variety in Chemistry Education, Kraków, 4-7 lipca 2005r.;
    - a) komunikat: M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, pt. „Forensic Chemistry Specialization – how to catch the best student?”
    - b) plakat: M. Woźniakiewicz, A. Strzelecki, M. Swoboda, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, I. Maciejowska, Laboratory of Forensic Chemistry – do it yourself! – I wyróżnienie
    - c) plakat: R. Wietecha, J. Mania, M. Woźniakiewicz, I. Maciejowska, K. Madej, pt. „Is this last will fraudulent? – An experiment for the forensic chemistry laboratory course for undergraduate students” – II wyróżnienie
  21. Konwersatorium Spektrometrii Atomowej, IX Konwersatorium Absorpcji Atomowej, IV Konwersatorium Optycznej Spektrometrii Emisyjnej, I Konwersatorium Spektrometrii mas, Ustroń, 19-21 września 2005r.; komunikat: S. Walas, P. Zagrodzki, J. Banaśkiewicz, H. Mrowiec, R. Wietecha-Posłuszny, M. Słowiczek, pt. „Zastosowanie technik spektrometrii atomowej w badaniach guzów tarczyc”
  22. Working Group on Newly Appointed University Chemistry Teaching Staff, zorganizowane przez European Chemistry Thematic Network, Summer School Malta, 21-27 lipca 2005r., prezentacja zagadnienia „Problems of Base Learning”, proceeding: R. Wietecha-Posłuszny, A. M. Lilienkamp, pt. „Supervision”
  23. Seminarium IES, Kraków, 8 marca 2005r.; wykład na zaproszenie: R. Wietecha-Posłuszny, pt. „Metoda oznaczania selenu i arsenu w materiałach biologicznych techniką atomowej spektrometrii fluorescencyjnej z generacją wodorków”
  24. 8th European Conference on Research in Chemical Education, 31.08-1.09.2006 r.; Budapeszt (Węgry), I. Maciejowska, M. Brindell, R. Wietecha-Posłuszny, poster pt. „Residential Summer School – Efficacious Way of Academic Teachers’ Training”
  25. XLIX Zjazd PTCh i SliTPCh, Gdańsk, 18-22 września 2006 r.; I. Maciejowska, J. Mania, J. Milczarek, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, poster pt. „Niestandardowe formy podnoszenia jakości kształcenia”
  26. XLIX Zjazd PTCh i SliTPCh, Gdańsk, 18-22 września 2006 r.; M. Woźniakiewicz, A. Strzelecki, M. Słoboda, P. Kościelniak, R. Wietecha-Posłuszny, I. Maciejowska, komunikat pt. „Materiały multimedialne – nowe narzędzie w dydaktyce chemii sądowej”
  27. III Konferencja „Chemometria – metody i zastosowania”, Zakopane, 19-22 października 2006 r.; P. Zagrodzki, R. Ratajczak, R. Wietecha-Posłuszny, wykład pt. „Selenium status and hormone interaction in adolescent girls – a second evaluation of clinical parameters”
  28. XXIV Konferencja Toksykologów Sądowych, Wisła 16-18 maja 2007 r., komunikat: R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, A. Garbacik „Zastosowanie ekstrakcji mikrofalowej do analizy leków psychotropowych w materiale biologicznym”
  29. Mikrosymposium pt. „Wykorzystanie technologii informatycznych w dydaktyce chemii na poziomie szkoły wyższej”, Kraków – Wydział Chemii UJ, 18 czerwca 2007 r., poster: M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, A. Strzelecki, M. Słoboda, P. Kościelniak, I. Maciejowska „Multimedialne pomocne naukowe w dydaktyce chemii sądowej”

30. V Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów „Na pograniczu biologii i chemii”, Nachod, Czechy, 3 - 6 czerwca 2007 r.; M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, prezentacja pt. „Application of the capillary electrophoresis in the examination of inkjet inks for forensic purpose
31. The 2nd European Variety in Chemistry Education, Praga (Czechy), 27-30 czerwca 2007 r.; poster: I. Maciejowska, M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, A. Strzelecki, M. Słoboda, P. Kościelniak „The Flash MX supported manual for forensic chemistry students”
32. Konferencja „Selen - pierwiastek ważny dla zdrowia, fascynujący dla badacza”, Warszawa, 21 kwietnia 2007 r.; R. Wietecha-Posłuszny, J. Dobrowolska, P. Kościelniak, komunikat pt. „Metoda oznaczania selenu na potrzeby kliniczne i toksykologiczno-sądowe”
33. Konferencja „Selen - pierwiastek ważny dla zdrowia, fascynujący dla badacza”, Warszawa, 21 kwietnia 2007 r.; J. Dobrowolska, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, A. Bednarek, poster pt. „Metoda oznaczania selenu i arsenu we krwi i moczu dla potrzeb toksykologii klinicznej”
34. II Sesja Prac Badawczych Studentów Wydziału Chemii UJ, Kraków, 25 maja 2007 r.; A. Garbacik, P. Kościelniak, R. Wietecha-Posłuszny, komunikat pt. „Zastosowanie ekstrakcji mikrofalowej do analizy leków psychotropowych w materiale biologicznym”
35. XXIV Konferencja Toksykologów Sądowych, Wisła, 16-18 maja 2007 r.; R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, A. Garbacik, komunikat pt. „Zastosowanie ekstrakcji mikrofalowej do analizy leków psychotropowych w materiale biologicznym”
36. 8th International Symposium on Forensic Sciences, Šamorín-Čilistov (Słowacja), 26-29 września 2007 r.; J. Dobrowolska, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, poster pt. „HG-AFS Determination of Arsenic in Blood and Urine of Drug Addicted Persons”.
37. Seminarium „Wykorzystanie technologii informatycznych w dydaktyce chemii na poziomie szkoły wyższej”, Kraków, 18 czerwca 2007 r.; M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, A. Strzelecki, M. Słoboda, P. Kościelniak, I. Maciejowska, poster pt. „Multimedialne pomocne naukowe w dydaktyce chemii sądowej”
38. Tempus Seminar „Education In the Field of Forensic Chemistry at the Jagiellonian University”, Kraków 12 lutego 2008r.; prezentacja – R. Wietecha-Posłuszny, J. Dobrowolska, „The examination of biological samples by atomic fluorescence spectrometry for forensic and clinical purpose” (TEMPUS project „Education System in forensic Sciences for the republic of Macedonia” EDUFORMAK).
39. Tempus Seminar „Education In the Field of Forensic Chemistry at the Jagiellonian University”, Kraków 12 lutego 2008r.; prezentacja – R. Wietecha-Posłuszny, Laboratory Class for Forensic Chemistry Students” (TEMPUS project „Education System in forensic Sciences for the republic of Macedonia” EDUFORMAK).
40. VI Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów Na Pograniczu Biologii i Chemii, 20-23 kwietnia 2008 r.; Velke Losiny, Republika Czeska, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, komunikat: Forged document examination - extraction of printing inks from paper.
41. VI Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów Na Pograniczu Biologii i Chemii, 20-23 kwietnia 2008 r.; Velke Losiny, Republika Czeska, A. Garbacik, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, komunikat: Application of microwave-assisted extraction for isolation of psychotropic drugs from human hair.
42. XXV Konferencja Toksykologów Sądowych, Przegorzały, 7-9 maja 2008 r.; R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, komunikat pt.

- „Teoretyczne i praktyczne aspekty ekstrakcji mikrofalowej próbek biologicznych pod kątem analiz sądowych”.
43. 9<sup>th</sup> European Conference on Research in Chemical Education (ECRICE), Istambuł, 6-9 lipca 2008 r.; A. Bader, M. Rothweil, I. Maciejowska, R. Wietecha-Posłuszny, prezentacja pt. „How to redouble pupils' motivation? - Crime scene investigation exercise”.
  44. 9<sup>th</sup> European Conference on Research in Chemical Education (ECRICE), Istambuł, 6-9 lipca 2008 r.; M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster pt. „ Justice above all else – analytical chemistry in a forensic costume”
  45. 9<sup>th</sup> European Conference on Research in Chemical Education (ECRICE), Istambuł, 6-9 lipca 2008 r.; R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, poster pt. „A forensic laboratory class - application of the AFS method to post-mortem examination of acute toxic metal poisoning”.
  46. International Conference - Current Trends in Chemical Curricula, Praga, 24-26 września 2008 r.; R. Wietecha-Posłuszny, Iwona Maciejowska, poster pt. „Chemik na tropie zbrodni – Nobliści 2050”.
  47. IV Konferencja „Chemometria – metody i zastosowania”, Zakopane, 19-22 października 2008 r.; P. Zagrodzki, S. Walas, H. Mrowiec, R. Wietecha-Posłuszny, M. Słowiacek poster pt. „Selenium indices, trace elements, and thyroid hormones in different types of thyroid tumour”
  48. IX konferencja z cyklu Elektroanaliza w teorii i praktyce, 4-5 czerwca 2009, Kraków, M. Woźniakiewicz, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, poster pt. Optymalizacja separacji składników atramentów drukarkowych rozdzielanych techniką micelarnej elektrokinetycznej chromatografii kapilarnej;
  49. VII Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów Na pograniczu biologii i chemii, 7-10 czerwca 2009, Szklarska Poręba, Polska, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, C. Hughes, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, prezentacja ustna pt. Influence of storage conditions on extractions of colour dye-based inkjet inks from paper;
  50. 5<sup>th</sup> European Academy of Forensic Science, 8-11 września 2009, Glasgow, Anglia, M. Szafarska, A. Solarz, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster pt. Optimization of extraction of inkjet inks from paper for forensic purposes;
  51. The 5<sup>th</sup> European Academy of Forensic Science Conference, 8-11 września 2009 r., Glasgow (Wielka Brytania) M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, A. Garbacik, P. Kościelniak, poster: Microwave-assisted alkaline hair hydrolysis and liquid extraction of basic drugs from human hair
  52. 9<sup>th</sup> International Symposium on Forensic Sciences wrzesień 29 - październik 2 2009. Piešťany, Slovak Republic, Renata Wietecha-Posłuszny, Aneta Garbacik, Michał Woźniakiewicz, Paweł Kościelniak, komunikat: Innovative extraction method for isolation of psychotropic drugs from human hair,
  53. 9<sup>th</sup> International Symposium on Forensic Sciences, 29 września - 2 października 2009, Piešťany, Słowacja, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster pt. Document examination by comparison of printing inks originating from various manufacturers, wyróżnienie za najlepszą prezentację;
  54. VII Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów "Na pograniczu chemii i biologii", 7-10 czerwca 2009 r., Szklarska Poręba, A. Garbacik, M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, komunikat: A New Analytical Approach to Extraction of Psychotropic Drugs from Biological Samples
  55. 16<sup>th</sup> International Conference on Flow Injection Analysis, Included Related Techniques, 25-30 kwietnia 2010, Pattaya, Tajlandia, M. Szafarska, R. Wietecha-



- Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster pt. Examination of colour inkjet printing inks by capillary electrophoresis;
56. VIII Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów p.t. Na pograniczu chemii i biologii, 24-27 kwiecień 2010, Duszniki Zdrój, Polska, A. Solarz, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, prezentacja ustna p.t.: Ekstrakcja w punkcie zmętnienia w połączeniu z elektroforezą kapilarną jako metoda analizy atramentów drukarkowych;
  57. VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, 4-9 czerwiec 2010, Kraków, Polska, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, prezentacja ustna: Zastosowanie elektroforezy kapilarnej do analizy czarnych atramentów drukarkowych dla celów kryminalistycznej ekspertyzy dokumentów;
  58. VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, 4-9 czerwiec 2010, Kraków, Polska, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster pt. Optymalizacja separacji składników czarnych atramentów drukarkowych rozdzielanych techniką micelarnej elektrokinetycznej chromatografii kapilarnej;
  59. VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, 4-9 czerwiec 2010, Kraków, Polska, A. Solarz, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak poster pt.: Elektroforetyczna separacja składników atramentów drukarkowych - optymalizacja ekstrakcji techniką temperatury zmętnienia substancji barwiących;
  60. VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, 4-9 lipca 2010 r., Kraków, A. Repeta, M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, plakat: Klasyczna analiza jakościowa trucizn w dydaktyce chemii sądowej
  61. VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, 4-9 lipca 2010 r., Kraków, R. Wietecha-Posłuszny, A. Garbacik, A. Moos, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, komunikat: Zastosowanie mikroekstrakcji na upakowanym sorbencie do izolacji leków psychotropowych z materiału biologicznego dla celów toksykologiczno-sądowych
  62. FINAL Tempus-EDUFORMAK WORKSHOP Program, Skopje, 15. 02.2010, R. Wietecha-Posłuszny, wykład, Application of case study and role-playing in forensic chemistry education.
  63. 53. Zjazd PTChemi i SIPTChem, 14-18 września 2010, Gliwice, Polska, P. Kościelniak, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, prezentacja ustna pt. Badanie degradacji kolorowych atramentów drukarkowych pod kątem określania wieku dokumentów.
  64. The 16th International Conference on Flow Injection Analysis, 25 - 30 kwietnia 2010 r., Pattaya (Thailand) M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, plakat: Examination of colour inkjet printing inks by capillary electrophoresis
  65. 47th Congress of the European Societies of Toxicology, Paryż, Francja, 28 - 31 sierpnia 2011, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, A. Garbacik, P. Kościelniak, plakat, Microwave-assisted liquid-liquid extraction of psychotropic drugs from human serum,
  66. XXVIII Konferencja Toksykologów Sądowych, 18 - 20 maja 2011, Agnieszka Moos, Renata Wietecha-Posłuszny, Michał Woźniakiewicz, Aneta Garbacik, Paweł Kościelniak, wykład, Zastosowanie mikroekstrakcji na upakowanym sorbencie do izolacji leków psychotropowych z płynu ze śliny na potrzeby toksykologii sądowej,
  67. 17th International Conference on Flow Injection Analysis, 3-8 lipiec 2011, Kraków, Polska, A. Solarz, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster pt. Examination of black inkjet printing inks by capillary electrophoresis;

68. 19th Triennial Meeting of the International Association of Forensic Sciences (IAFS), 12-17 września 2011, Funchal, Madera, Portugalia, P. Kościelniak, A. Solarz, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, poster pt. Application of micellar electrokinetic capillary chromatography for discrimination of black inkjet printouts;
69. 10th International Symposium on Forensic Sciences, 27 - 30 września 2011, Bratysława, Słowacja, A. Solarz, M. Szafarska, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, prezentacja ustna pt. Analytical comparison of liquid inkjet printing inks with those extracted from paper for forensic purpose;
70. 10th International Symposium on Forensic Sciences, 27 - 30 września 2011, Bratysława, Słowacja, M. Szafarska, A. Solarz, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, prezentacja ustna pt. Application of non-aqueous capillary electrophoresis to discrimination of dyes and inks;
71. 47th Congress of the European Societies of Toxicology, Paryż, Francja, 28 - 31 sierpnia 2011, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, A. Garbacik, P. Kościelniak, plakat, Advances in the sample preparation techniques of human body fluids In toxicological analysis,
72. 7th International Conference "IMA 2011-Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications", Chania, Grecja, 18 - 22 września 2011, wykład - R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, A. Garbacik, P. Kościelniak, wykład, Rapid analytical method based on microwave assisted extraction of benzodiazepines from human hair,
73. 6th European Academy of Forensic Science Conference, Haga (Holandia), 20-24 sierpnia 2012 r.; A. Kula, K. Pasioneck, M. Król, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster „Application of non-aqueous capillary electrophoresis for the forensic analysis of writing and printing inks,
74. 6th European Academy of Forensic Science Conference, Haga (Holandia), 20-24 sierpnia 2012 r.; R. Wietecha-Posłuszny, A. Kula, M. Król, K. Pasioneck, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster „Application of laser induced breakdown spectroscopy to examination of writing inks for forensic purposes"
75. European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, 10-15 lutego 2013 r., Kraków, Polska, A. Kula, K. Pasioneck, R. Wietecha-Posłuszny, M. Król, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster pt.: Examination of writing inks by LIBS technique for forensic purpose.
76. 17th Euroanalysis 25-29 sierpnia 2013 r., Warszawa, Polska M. Król, A. Kula, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, poster pt.: Application of CE-MS technique to the analysis of black inkjet inks for forensic purpose, ,
77. Ślady kryminalistyczne i ich znaczenie w postępowaniu przygotowawczym, IES im. J. Sehna, 16 października 2013, Kraków, Polska, M. Król, A. Kula, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, wykład pt. Nowoczesne Techniki badań materiałów kryjących,
78. 8th International Conference on Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications, 15-19 września 2013 r.; Saloniki, Grecja, P. Kościelniak, M. Król, A. Kula, E. Pieprzyca, R. Wietecha-Posłuszny and M. Woźniakiewicz, wykład pt. "Discrimination of toners by laser induced breakdown spectrometry for forensic purposes"
79. Seminarium: Medycyna sądowa i toksykologia - rozwiązania LC-MS i FT-IR, we współpracy z firma Bruker Polska, 26 listopada 2013 r.; Kraków, Polska A. Kula, M. Król, R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, wykład pt.

- Application of CE-ESI-MS-TOF technique to examination of inks - wykład na zaproszenie
80. 20th International Symposium on Separation Sciences, 30 sierpnia - 02 września 2014 r., Praga, Czechy; A. Moos, D. Rębisz, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, poster pt. "Development of the MEPS/UHPLC-ESI-MS method for examination of 'new' generation antidepressant drugs in oral fluid"
  81. Eurotox, The 50th Congress of the European Societies of Toxicology, 07 - 10 września 2014 r., Edynburg, Wielka Brytania; R. Wietecha-Posłuszny, A. Moos, A. Bocheńska, P. Kościelniak, poster pt. "Lachrymal fluid as an alternative biological matrix for toxicological purpose"
  82. TIAFT, 52nd Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists, 9-13 listopada 2014 r., Buenos Aires, Argentyna; A. Moos, S. Rojek, R. Wietecha-Posłuszny, M. Kłys, P. Kościelniak, wykład na zaproszenie pt. "Development and validation of the SPE/LC-ESI-MS-MS method for determination of group of benzodiazepines, their metabolites and 3 "z-drugs" in blood samples for medico - legal application"
  83. 8th International Symposium on Capillary Chromatography (ISCC), 19-23 maja 2014, Riva del Garda, Włochy, R. Wietecha-Posłuszny, A. Garbacik, A. Sekuła, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak, plakat, Development of a derivatization method for the determination of psychotropic substances using CE- LIF technique
  84. XXIII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Bromatologia dla społeczeństwa XXI wieku", Kraków 10-12.09.2014, poster elektroniczny: J. Kryczyk, R. Wietecha-Posłuszny, P. Zagrodzki, Selenium in urine in patients with Hashimoto's disease before and after selenium supplementation.
  85. IV Konferencja Doktorantów Wydziału Lekarskiego i Farmaceutycznego CM UJ, 29 - 30 maja 2014 r., Kraków; A. Moos, A. Bocheńska, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, poster pt. "Zastosowanie manualnej i automatycznej wersji mikroekstrakcji na upakowanym sorbencie (MEPS) do izolacji leków z grupy benzodiazepin z dwóch biologicznych materiałów alternatywnych"
  86. X Konferencja Chromatograficzna, 23 -26 września 2014 r., Lublin, Polska; A. Moos, S. Rojek, R. Wietecha-Posłuszny, M. Kłys, P. Kościelniak, poster pt. "Opracowanie metody SPE/LC-ESI-MS-MS do oznaczania leków z grupy benzodiazepin we krwi na potrzeby toksykologii sądowej"
  87. IX Ogólnopolskie Sympozjum "Analizy Przepływowej" Kraków, 10. 2014, P. Knihnicki, R. Wietecha-Posłuszny, P. Kościelniak, wykład: Recent applications of flow analysis in forensic chemistry
  88. Konferencja i warsztaty praktyczne, Koła Naukowego Kryminalistyki UJ, im. Prof. T. Hanauska, Oględziny miejsca zdarzenia-nietypowe przypadki? - uczestnictwo na zaproszenie organizatorów, R. Wietecha-Posłuszny, Kraków, 04.12.14
  89. XIII Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów "Na pograniczu chemii i biologii", 31.05-3.06.2015, Karpacz, M. Garnysz, R. Wietecha-Posłuszny, S. Lendor, P. Kościelniak, wykład pt. „Human bone marrow as a material of interest in forensic chemistry"
  90. Horyzonty Nauki: Forum Prac Dyplomowych WCH UJ, 28.06. 2015, Kraków, S. Lendor, M. Garnysz, R. Wietecha-Posłuszny, wykład pt. „Determination of psychoactive substances in human bone marrow by HPLC-MS and CE-MS"
  91. IX Polska Konferencja Chemii Analitycznej "Chemia analityczna to ciągle wyzwania", 6-10.07, Poznań, Magdalena Garnysz, R. Wietecha-Posłuszny, Sofia Lendor, M. Zawadzki, P. Kościelniak, poster pt. „Metoda MAE-HPLC/MS jako narzędzie w analizie materiału alternatywnego"

92. 58 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, 21-25.09.2015, Gdańsk, R. Wietecha-Posłuszny, Paweł Kościelniak, wykład sesyjny pt. „Sposoby przygotowania materiału biologicznego dla celów toksykologiczno-sądowych”
93. 9th International Conference on "Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications", 20-24.06.2015, Kalamata, Grecja, A. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, S. Lendor, M. Zawadzki, P. Kościelniak, poster pt. „MAE/UHPLC-TOF-MS as a method for determination of carbamazepine and its metabolite in autopsy materials”
94. Progress in biomedicine & neuromedicine Humboldt-Kolleg -workshop with Nobel Prize Winner Professor Erwin Neher, 21-23.05.2015, Kraków, P. Barwa, R. Wietecha-Posłuszny, poster pt. „New advances in the miniaturization of SPE techniques”
95. XIV Ogólnopolskie Seminarium dla Doktorantów "Na pograniczu chemii i biologii" 22 - 25 maja 2016, Karpacz, Alicja Majda, Agata Mendys, Renata Wietecha-Posłuszny, Barbara Łydźba - Kopczyńska, Paweł Kościelniak, Development of a new methodology of biological traces (DBS) analysis on the Surface –wykład
96. I Konferencja Młodych Chemików Sądowych, 24-25.06.2016, Kraków, Magdalena Garnysz, Renata Wietecha-Posłuszny, Karolina Majchrzak, Paweł Kościelniak, Marcin Zawadzki, Wykrywanie leków przeciwdepresyjnych nowej generacji w szpiku kostnym metodą MAE-UHPLC/MS, (wystąpienie ustne)
97. I Konferencja Młodych Chemików Sądowych, 24-25.06.2016, Kraków, Renata Wietecha-Posłuszny, Sposoby przygotowania materiału biologicznego dla celów toksykologiczno-sądowych, (wykład plenarny str. 22 w książce abstraktów)
98. I Konferencja Młodych Chemików Sądowych, 24-25.06.2016, Kraków, Ewa Kurys, Magdalena Garnysz, Renata Wietecha-Posłuszny, Marcin Zawadzki, Wykorzystanie procesu izolacji ksenobiotyków ze szpiku kostnego w procesie badania efektów matrycowych oraz podobieństwa pomiędzy różnymi rodzajami matryc tkanek kostnych, (wystąpienie ustne str. 53 w książce abstraktów)
99. I Konferencja Młodych Chemików Sądowych, 24-25.06.2016, Kraków, Agata Piwko, Aneta Woźniakiewicz, Renata Wietecha-Posłuszny, Zastosowanie elektroforezy kapilarnej sprzężonej ze spektrometrem mas do separacji karbamazepiny i jej metabolitów (wystąpienie ustne)
100. I Konferencja Młodych Chemików Sądowych, 24-25.06.2016, Kraków, Paweł Świt, Renata Wietecha-Posłuszny, Paweł Kościelniak, Układy lab-on-a-chip w analizie śladów powybuchowych, (wystąpienie ustne)
101. I Konferencja Młodych Chemików Sądowych, 24-25.06.2016, Kraków, Alicja Majda, Agata Mendys, Anna Wójtowicz, Renata Wietecha - Posłuszny, Barbara Łydźba - Kopczyńska, Paweł Kościelniak, Obrazowanie hiperspektralne - nieniszczące narzędzie do uczyelniania tekstu i analizy śladów na dokumentach (wystąpienie ustne) - nagroda za najlepsze wystąpienie ustne
102. I Konferencja Młodych Chemików Sądowych, 24-25.06.2016, Kraków, Anna Wójtowicz, Alicja Majda, Renata Wietecha-Posłuszny, Paweł Kościelniak, Opracowanie metody przygotowania i wykorzystanie spektroskopii refleksyjnej w analizie śladów krwi na potrzeby analizy sądowej (wystąpienie ustne)
103. XXXIII Konferencja Toksykologów Sądowych - Nowe trendy w analizie toksykologicznej Poznań/Prusim, 11 - 13 maja 2016 r, M. Garnysz, R. Wietecha-

- Posłuszny, S. Lendor, M. Zawadzki, P. Kościelniak, Metoda MAE-UHPLC/MS jako narzędzie do wykrywania związków psychoaktywnych w szpiku kostnym - wystąpienie ustne
104. Środek działający na OUN, jako zamiętu typu czynu zabronionego, Kraków, Polska, 9 września 2016 r. R. Wietecha-Posłuszny – uczestnictwo
  105. 6th Meeting X-ray and other techniques in investigations of the objects of cultural heritage, 19-21.05.2016, Kraków, Polska, Alicja Majda, Agata Mendys, Renata Wietecha - Posłuszny, Barbara Łydzba - Kopczyńska, Paweł Kościelniak, Text enhancement and examination of traces on documents using hyperspectral imaging combined with the chemometric approach (poster)
  106. IASIM – 6th conference in spectral imaging, 3-6.07.2016, Chamonix-Mont-Blanc, Francja, 1. Alicja Majda, Agata Mendys, Anna Wojtowicz, Renata Wietecha-Posłuszny, Barbara Łydzba-Kopczyńska, Paweł Kościelniak, Analysis of the composition of the dried blood spot and determination of their age using hyperspectral imaging in the VIS-SVIR range (poster)
  107. X Polish Symposium Flow Analysis&Capillary Electrophoresis, 14-16.09.2016, Kraków, Polska, M. Garnysz, R. Wietecha-Posłuszny, S. Lendor, M. Zawadzki, P. Kościelniak, MAE-CE/MS method for detection of psychoactive drugs in bone marrow (wystąpienie ustne)
  108. X Polish Symposium Flow Analysis&Capillary Electrophoresis, 14-16.09.2016, Kraków, Polska, R. Wietecha-Posłuszny, A. Woźniakiewicz, M. Garnysz, S. Lendor, A. Moos, P. Kościelniak, Sample preparation methodologies of human tissues and capillary electrophoresis technique in toxicological analysis (wykład na zaproszenie)
  109. 18th International Symposium on Advances in Extraction Technologies & 22nd International Symposium on Separation Sciences, 3-6.07.2016, Toruń, Polska, A. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, A. Piwko, S. Lendor, P. Kościelniak, Development of MAE/CE-TOF-MS method for identification and determination of carbamazepine and its metabolites in hair (poster)
  110. II Konferencja Młodych Chemików Sądowych, Wrocław, 24 - 26 marca 2017, Alicja Majda, Anna Wójtowicz, Agata Mendys, Renata Wietecha-Posłuszny, Paweł Kościelniak, komunikat, pt. Obrazowanie hiperspektralne z analizą chemometryczną w zastosowaniu do chemii sądowej
  111. II Konferencja Młodych Chemików Sądowych, Wrocław, 24 - 26 marca 2017, Anna Wójtowicz, Alicja Majda, Renata Wietecha-Posłuszny, komunikat, pt. Wykorzystanie DESI oraz metod spektroskopowych w analizie toksykologiczno - sądowej
  112. II Konferencja Młodych Chemików Sądowych, Wrocław, 24 - 26 marca 2017, Magdalena Świądro, Alicja Majda, Renata Wietecha-Posłuszny, komunikat, pt. Metoda suchej kropli krwi (DBS) - metoda monitorowania zawartości leków
  113. XXXIV Konferencja Toksykologów Sądowych, Kraków, 10 - 12 maja 2017, Alicja Majda, Magdalena Świądro, Karolina Mrochem, Renata Wietecha-Posłuszny, Paweł Kościelniak, wykład, pt. Wykorzystanie metody DBS/LC-MS w oznaczaniu substancji psychotropowych w próbkach krwi

114. XXXIV Konferencja Toksykologów Sądowych, Kraków, 10 - 12 maja 2017, Renata Wietecha-Posłuszny, Magdalena Garnysz, Marcin Zawadzki, Paweł Kościelniak, wykład, pt. Metoda MAE-UHPLC/MS jako narzędzie do wykrywania i oznaczania leków psychotropowych w szpiku kostnym
115. Horyzonty nauki 2017, Forum Prac Dyplomowych, Kraków, 23 - 24 maja 2017, Karolina Mrochem, Magdalena Świądro, Alicja Majda, Renata Wietecha-Posłuszny, komunikat, pt. Application of Dried Blood Spot (DBS) methodology in the toxicological analysis

## 7. Publikacje w recenzowanych materiałach konferencyjnych o zasięgu międzynarodowym

1. I. Maciejowska, M. Woźniakiewicz, **R. Wietecha-Posłuszny**, A. Strzelecki, M. Słoboda, P. Kościelniak, „The Flash MX Supported Manual for Forensic Chemistry Students”, 156-158 (2007); “The 2nd European Variety in Chemistry Education”, Praga (Czechy),  
Udział własny: 20% opracowanie koncepcji badań i manuskryptu oraz interpretacja danych.
2. J. Dobrowolska, **R. Wietecha-Posłuszny**\*, P. Kościelniak, "HG-AFS Determination of Arsenic in Blood and in Urine of Dru-Addicted Persons: materiały konferencyjne; 8th International Symposium on Forensic Sciences, Samorin-Cilistov (Słowacja), 85-92, (2008)  
Udział własny: 40% opracowanie koncepcji badań i manuskryptu, wykonanie analiz próbek po mineralizacji, analiza otrzymanych wyników oraz interpretacja danych, opis doświadczeń
3. M. Szafarska, A. Solarz, **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak Application of non-aqueous capillary electrophoresis to discrimination of dyes and inks, Proceedings of 10th International Symposium on Forensic Sciences, Bratislava 2011,127-130  
Udział własny: 15% opracowanie koncepcji badań i manuskryptu, opis doświadczeń
4. A. Solarz, M. Szafarska, **R. Wietecha-Posłuszny**, M. Woźniakiewicz, P. Kościelniak Analytical comparison of liquid inkjet printing inks with those extracted from paper for forensic purpose, Proceedings of 10th International Symposium on Forensic Sciences, Bratislava 2011, 119-126;  
Udział własny: 10% opracowanie koncepcji badań i manuskryptu oraz interpretacja danych

## **8. Przewodniczenie obradom konferencyjnym oraz członkostwo w komitetach naukowych**

1. Konferencja zorganizowana przez: Komendę Wojewódzką Państwowej Straży Pożarnej oraz Szkołę Aspirantów PSP w Krakowie pn. „Wykonywanie prac ratowniczych i podwodnych w wodach skażonych i zanieczyszczonych”, Kraków, 10-11 czerwca 2008 r.; R. Wietecha Posłuszny, praca w komitecie naukowym, prowadzenie całości obrad.
2. II Sesja Prac Badawczych Studentów Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, 25 maja 2007, Wydział Chemii UJ, Kraków - praca w komitecie naukowym, oceniającym prezentacje
3. VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, 4-9 czerwiec 2010, Kraków – prowadzenie sesji pt. Chemia Sądowa
4. IX Ogólnopolskie Sympozjum "Analizy Przepływowej" 9-10 październik 2014, Kraków – prowadzenie sesji pt. zastosowanie systemów FIA w analizie
5. Horyzonty Nauki: Forum Prac Dyplomowych WCH UJ, 28-29 czerwca 2015, Kraków - praca w komitecie naukowym, oceniającym prezentacje
6. I Konferencja Młodych Chemików Sądowych, 24-25 czerwca 2016, Kraków, przewodnicząca konferencji, praca w komitecie naukowy, oceniającym prezentacje
7. II Konferencja Młodych Chemików Sądowych, Wrocław, 24 - 26 marca 2017, przewodnicząca konferencji, praca w komitecie naukowym, oceniającym prezentacje
8. Horyzonty Nauki 2017, Forum Prac Dyplomowych, Kraków, 23 - 24 maja 2017, praca w komitecie naukowym, oceniającym prezentacje

## **9. Organizacja konferencji naukowych krajowych i zagranicznych na UJ:**

1. IV Ogólnopolskie Sympozjum „Analiza przepływowa”, 21 - 23 października 2004, Kraków
2. III Konferencja „Chemometria – metody i zastosowania”, 19-22 października 2006, Zakopane
3. Tempus Seminar „Education in the Field of Forensic Chemistry at the Jagiellonian University”, 12 lutego 2008, Kraków
4. IV Konferencja „Chemometria – metody i zastosowania”, 19-22 października 2008, Zakopane
5. VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, 4-9 czerwca 2010, Kraków
6. 17th International Conference on Flow Injection Analysis, 3-8 lipca 2011, Kraków
7. European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, 10-15 lutego 2013, Kraków,
8. IX Ogólnopolskie Sympozjum "Analizy Przepływowej" Kraków, 9-10 października 2014, Kraków
9. I Konferencja Młodych Chemików Sądowych, 24-25 czerwca 2016, Kraków
10. X Polish Symposium Flow Analysis&Capillary Electrophoresis, 14-16 września 2016, Kraków
11. II Konferencja Młodych Chemików Sądowych, , 24 - 26 marca 2017, Wrocław

## **10. Opieka i promotorstwo nad pracami magisterskimi realizowanymi na UJ (w sumie 25 prac):**

### **10.1. Opieka nad pracą magisterską:**

1. Maciej Rymanowski (2001) - Oznaczanie selenu w materiale biologicznych metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej,
2. Iwona Postrzelona (2002) – Zastosowanie metody HG-AFS w analizę materiału biologicznego.
3. Tomasz Kielar (2003) – Oznaczanie seleniu i arseniu we włosach ludzkich metodą HG-AFS
4. Justyna Dobrowolska (2004) - Oznaczanie selenu i arsenu w materiale biologicznych metodą HG-AFS
5. Agnieszka Bednarek (2005) - Analiza krwi i moczu na zawartość selenu i arsenu u pacjentów objętych programem metadonowym
6. Aneta Garbacik (2007) - Zastosowanie ekstrakcji mikrofalowej do analizy leków psychotropowych w materiale biologicznym
7. Gabriela Nowak (2009) - Biomonitoring of reactive organic species (ROS) by HPLC (Universität Wien)
8. Anna Ziemianin (2008) - Development of analysis methods for neurotransmitters (Université d'Orléans)

### **10.2. Promotor prac magisterskich:**

9. Wojciech Kornobis (2010) - Metoda elektroforezy kapilarnej jako narzędzie różnicowania czarnych atramentów drukarkowych na potrzeby ekspertyz sądowych
10. Agnieszka Solarz (2010) - Elektroforeza kapilarna jako narzędzie w badaniu atramentów drukarkowych
11. Aneta Repeta (2010) - Ćwiczenia multimedialne dla panelu Chemia Sądowa
12. Rafał Kowalski (2011) - Metody elektroforezy kapilarnej i LIBS jako uniwersalne narzędzia różnicowania atramentów drukarkowych na potrzeby ekspertyzy sądowej
13. Magdalena Pawłowska (2011) - Zastosowanie mikroekstrakcji MEPS do oznaczania leków psychotropowych w ślinie pod kątem toksykologii sądowej
14. Anna Bugaj (2012) - Zastosowanie energii mikrofalowej na etapie przygotowania próbek włosów pod kątem analiz toksykologicznych
15. Katarzyna Pasionek (2012) - Opracowanie metody badania materiałów kryjących dla celów ekspertyzy sądowej z wykorzystaniem metod CE-MS, LIBS
16. Victoria Brode (2012) - Determination of Tricyclic Antidepressants and Benzodiazepines using Capillary Electrophoresis
17. Agnieszka Bocheńska (2013) - Zastosowanie mikroekstrakcji na upakowanym sorbencie do przygotowania materiałów alternatywnych w toksykologii sądowej
18. Ewelina Bryczek (2013) - Opracowanie nowoczesnej metody MAE/CE-MS do analizy materiałów biologicznych na obecność leków psychotropowych i innych substancji
19. Anita Sekuła (2014) - Opracowanie procedury oznaczania leków psychotropowych oraz substancji aktywnych z grupy dopalaczy w materiale biologicznym metodami CE-LIF i CE-MS
20. Dominika Rębisz (2014) - Oznaczanie substancji psychoaktywnych w płynie z jamy ustnej metodą UHPLC-MS



21. Sofia Lendor (2015) - Determination of psychoactive substances in human bone marrow by HPLC-MS and CE-MS
22. Agata Piwko (2016) - Zastosowanie elektroforezy kapilarnej sprzężonej ze spektrometrem mas do separacji karbamazepiny i jej metabolitów
23. Ewa Kurys (2016) - Wykorzystanie procesu izolacji ksenobiotyków ze szpiku kostnego w procesie badania efektów matrycowych oraz podobieństwa pomiędzy różnymi rodzajami matryc tkanek kostnych
24. Magdalena Świądro (2017) - Oznaczanie substancji psychoaktywnych z wykorzystaniem metody DBS (Dried Blood Spot) na potrzeby analizy toksykologiczno-sądowej
25. Karolina Majchrzak (2017) - Opracowanie metody MAE-UHPLC-MS do oznaczania leków przeciwdepresyjnych II i III generacji (SSRI i SNRI) w szpiku kostnym

### 10.3. Recenzje pozostałych prac magisterskich:

1. Kinga Wrona (2007) - Opracowanie procedury oznaczania alkaloidów opium w materiale roślinnym z zastosowaniem techniki HPLC-DAD (promotor prof. dr hab. Małgorzata Kłys ZMS CMUJ)
2. Patrycja Kołodziej (2009) - Zastosowanie metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas i jonizacją elektrosprej (HPLC-ESI-MS-MS) do oznaczania we włosach środków ułatwiających wykorzystanie seksualne na przykładzie klonazepamu (promotor prof. dr hab. Małgorzata Kłys ZMS CMUJ)
3. Łukasz Półchłopek (2011) - Separation and determination of enantiomers of phenoxyacid herbicides and herbicide safeners (promotor: prof. dr hab. W. Piekoszewski)
4. Anna Krawczyk (2013) - Opracowanie metody oznaczania arsenu (promotor: prof. dr hab. Andrzej Parczewski, dr Krystyna Sadlik IES)
5. Maria Kolba (2013) - Zastosowanie metody HILIC-ESI-MS/MS do oznaczenia glukuronidu etylu we włosach dla celów opiniowania sądowo – lekarskiego (promotor: prof. dr hab. Pawła Kościelniak, dr Sebastian Rojek ZMS CMUJ)

### 10.4. Opieka nad pracami licencjackimi (12 prac):

1. Zofia Batko (2010) - Reakcje nieorganiczne w analizie toksykologicznej
2. Marianna Bienias (2010) - Zastosowanie elektroforezy kapilarnej do badania śladów powybuchowych
3. Paweł Świt (2010) - Układy lab-on-a-chip w analizie śladów powybuchowych
4. Monika Wandas (2010) – Zastosowanie i właściwości sorbentów w procesie ekstrakcji
5. Anna Krawczyk (2011) - Metody przygotowywania próbek i chemicznej analizy alternatywnych substancji odurzających na przykładzie dopalaczy
6. Ewelina Bryczek (2011) - Rodzaje i charakterystyka alternatywnych substancji odurzających-przegląd literaturowy
7. Piotr Barwa - (2012) - Metody ekstrakcji leków psychotropowych do fazy stałej dla potrzeb analizy toksykologicznej

8. Sofia Lendor (2014) - Oznaczanie substancji psychoaktywnych wchodzących w skład dopalaczy i leków z grupy benzodiazepin w materiale biologicznym metodą CE-LIF/MS
9. Aleksandra Marczyk (2016) - Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej w analizie preparatów farmaceutycznych
10. Anna Wójtowicz (2016) - Opracowanie metody przygotowania i wykorzystanie spektroskopii refleksyjnej w analizie śladów krwi na potrzeby analizy sądowej
11. Paweł Stelmaszczyk (2017) - Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej w analizie preparatów farmaceutycznych
12. Karolina Mrochem (2017) - Application of Dried Blood Spot (DBS) methodology in toxicological analysis

#### **10.5. Opieka nad miniprojektami realizowanymi na UJ (17 prac):**

1. Agnieszka Solarz - Atramenty drukarkowe i metody wykorzystywane do ich analizowania pod kątem badań kryminalistycznych” - A. Solarz,
2. Beata Król - Elektroforeza kapilarna i jej zastosowanie do celów kryminalistycznych
3. Erwin Gawor - Zastosowanie elektroforezy kapilarnej jako narzędzia w badaniach kryminalistycznych dokumentów drukowanych atramentami
4. Gabriellą Rybak - Zastosowanie metody HPLC w analizie leków
5. Rafał Kowalski - Wykorzystanie techniki elektroforezy kapilarnej w analizie dokumentów
6. Ania Bugaj - Zastosowanie energii mikrofalowej MAH-MAE na etapie przygotowania próbek włosów pod kątem analiz toksykologicznych
7. Katarzyna Pasionek - Opracowanie metody badania materiałów kryjących dla celów ekspertyzy sądowej, wykorzystanie metody CE-MS, LIBS
8. Ewelina Bryczek – Zastosowanie elektroforezy kapilarnej w analizach toksykologicznych.
9. Agnieszka Bocheńska- Zastosowanie mikroekstrakcji na stałym sorbencie (MEPS) do przygotowania materiałów alternatywnych (ślina) w toksykologii sądowej
10. Anita Sekuła - Opracowanie procedury oznaczania leków psychotropowych w materiale biologicznym metodami CE – LIF i CE – MS
11. Dominika Rębisz - Oznaczania substancji psychoaktywnych w materiałach alternatywnych (łzy, włosy) metodą LC-MS
12. Joanna Król - Badanie stabilności roztworów wzorcowych leków
13. Ewa Kurys - Badanie interferencji oraz efektu matrycy podczas analizy szpiku kostnego
14. Karolina Majchrzak - Metody oznaczania leków z grupy SSRI i SSRNI w analizie toksykologicznej.
15. Magdalena Świądro - Zastosowanie metody LC/MS do analizy próbek DBS.
16. Anna Wójtowicz - Wykorzystanie obrazowania hiperspektralnego do rozróżniania plam krwawych w zależności od składu i wieku.
17. Monika Strzałkowska - Opracowanie metodyki obliczania stężenia analitów z zastosowaniem metody DBS

#### **10.6. Opieka nad studentami indywidualnymi z Wydziału Chemii UJ:**

1. Anna Wójtowicz od 2015 roku
2. Aleksandra Marczyk od 2017 roku

## 11. Opieka i współpraca w ramach prac doktorskich:

1. Aneta Garbacik (2007-2011) praca doktorska pt. „Nowoczesne metody przygotowania próbek biologicznych do analizy”, Uniwersytet Jagielloński – **opiekun naukowy**
2. Agnieszka Moos (2011-2015) praca doktorska pt. „Analiza alternatywnych materiałów biologicznych na potrzeby ekspertyzy sądowej”, Uniwersytet Jagielloński – **opiekun naukowy**
3. Alicja Majda (2015- 2018) praca doktorska pt. „Innowacyjne sposoby analizy krwi i szpiku kostnego na zawartość substancji psychoaktywnych”, Uniwersytet Jagielloński – **promotor pomocniczy**

## 12. Realizowane projekty badawcze

1. Grant promotorski (2001-2004) „Adaptacja i weryfikacja nowej metody oznaczania selenu w materiałach biologicznych” – **wykonawca projektu**
2. Międzynarodowy projekt w ramach programu Socrates-Comenius CITIES współpraca Uniwersytetu we Frankfurcie oraz Uniwersytetu Jagiellońskiego, 2009 - **wykonawca projektu**
3. Grant własny „Zastosowanie elektroforezy kapilarnej jako narzędzia w badaniach dokumentów drukowanych atramentami dla potrzeb wymiaru sprawiedliwości”, Nr wniosku: O N204 0003 33 – w trakcie realizacji (2007-2010) – **wykonawca projektu**
4. Grant własny „Wykorzystanie nowoczesnego instrumentarium analitycznego dla potrzeb zwalczania przestępstw przeciwko dokumentom”, Nr: 0457/B/T00/2010/38 – w trakcie realizacji (2010-2013) 365 625,00 PLN – **kierownik projektu**
5. POIG. "Mikro- i Nano-Systemy w Chemii i Diagnostyce Biomedycznej" Działanie 1.3. Wsparcie badań naukowych dla budowy gospodarki opartej na wiedzy, Poddziałanie 1.3.1. Projekty rozwojowe; współpraca UJ z IBIB (W-wa) - Lab-on-a-chip z detekcją elektrochemiczną do analizy próbek śliny na zawartość substancji psychoaktywnych (2008-2013) 720 000, 00 LN - **wykonawca projektu z ramienia UJ**
6. Iuventus Plus – I edycja Wniosek pt. „Innowacyjna metoda przygotowania próbek materiału biologicznego do analizy toksykologiczno-sądowej” Nr 0461/H03/2010/70: 2011 r 150 000,00 PLN- **kierownik projektu**
7. Iuventus Plus – II edycja Wniosek pt. „Toksykologiczno-sądowa analiza materiałów biologicznych na obecność leków psychotropowych i substancji psychoaktywnych wchodzących w skład dopalaczy metodą CE-LIF/MS” Nr IP 2011 060071 (2012-2014) 230 500,00 PLN– **kierownik projektu**
8. Sonata Bis 6 – Wniosek pt. „Toksykinetyka ksenobiotyków w ludzkich tkankach: zintegrowane badania nad zachowaniem substancji psychoaktywnych w szpiku kostnym i alternatywnych materiałach sekcyjnych” Nr UMO-2016/22/E/ST4/00054 (2017-2021) 1 648 800,00PLN - **kierownik projektu**

## Projekty finansowane ze środków UJ lub międzynarodowych

1. DBN-414/CRBW/IX-34/2004 – S. Walas, H. Mrowiec, R. Wietecha-Posłuszny, P. Zagrodzi projekt pt. „Analiza stężeń selenu, miedzi, cynku w różnych typach guzów tarczycy”- **wykonawca projektu**
2. DBN-414/CRBW/IX-41/2005 S. Walas, H. Mrowiec, R. Wietecha-Posłuszny, P. próba skorelowania z diagnozami” – **wykonawca projektu**
3. Projekt „ArsDocendi” - opracowanie multimedialnych materiałów dla potrzeb kształcenia studentów specjalizacji „Chemia sądowa” na Wydziale Chemii UJ - rok realizacji 2005r – **kierownik projektu**
4. Projekt „Ars Docendi” uruchomienie stanowiska laboratoryjnego do ćwiczenia specjalizacyjnego oraz kursu multimedialnego pt. „Wykrywanie i ujawnianie śladów kryminalistycznych” dla studentów panelu Chemia Sądowa na Wydziale Chemii UJ, rok realizacji (2008 -2009) – **kierownik projektu**
5. Projekt nr: WŁ/NKL/102/L/05-06 pt. „Zaburzenia w gospodarce cynkiem, miedzią i selenem u osób uzależnionych od opiatów i leczonych metadonem - współpraca z Ośrodkiem Detoksykacji Kliniki Toksykologii Collegium Medicum UJ i Katedrą Toksykologii Klinicznej i Środowiskowej CM UJ – **wykonawca projektu**
6. Wszechnicą UJ – projekt „Nobliści 2050” – **koordynacja i wykonawca projektu**
7. Projekt programu TEMPUS nr JEP\_41105\_2006 pt. „Education System in Forensic Sciences for the Republic of Macedonia” (EDUFORMAK), EU, okres realizacji (2007 – 2009), - **wykonawca projektu**
8. POKL.04.01.02-00-097/09 „Zwiększenie liczby wysoko wykwalifikowanych absolwentów kierunków ścisłych Uniwersytetu Jagiellońskiego (2009-2012) – **wykonawca projektu**
9. Projekt UDAPOKL. 04.01.01-00-121/10-00, Fundusze FS0 Fundusze strukturalne Interdyscyplinarne studia doktoranckie "Społeczeństwo-Technologie-Środowisko". (2010-2015) – wykonawca projektu

### 13. Staże krajowe i zagraniczne, szkolenia:

1. Polska, Kraków, Szkolenie w zakresie doskonalenia zawodowego nauczycieli akademickich KCEN/2005/140569, Krajowe Centrum Edukacji Nauczycieli, 2005,
2. Working Group on Newly Appointed University Chemistry Teaching Staff, zorganizowane przez European Chemistry Thematic Network, Summer School Malta, 21-27 lipca 2005r., (7 dni) delegowany przez UJ, finansowany przez ECTN
3. Hiszpania, Madryt, Centro Nacional de Química Orgánica (CSIC), pobyt szkoleniowy w zakresie zastosowania elektroforezy kapilarnej w badaniach kryminalistycznych (5 dni) 2009 r., Jednostka delegująca: Uniwersytet Jagielloński
4. Hiszpania, Madryt, Guardia Civil, (5 dni) 2009 r., pobyt szkoleniowy, badania kryminalistyczne, Jednostka delegująca: Uniwersytet Jagielloński
5. Wielka Brytania, Nottingham Trent University, (6 dni) 2010 r. pobyt szkoleniowy, Jednostka delegująca: Uniwersytet Jagielloński
6. Macedonia, Scopje, Uniwersytet Cyryla i Metodego w Macedonii, szkolenie dydaktyczne (Forensic Chemistry), TEMPUS project „Education System in forensic Sciences for the

- republic of Macedonia” EDUFORMAK (6 dni) 2010 r., Jednostka delegująca: Uniwersytet Jagielloński
7. Belgia, Namur, Analis Company, (4 dni) 2011 r., pobyt szkoleniowy, metody separacyjne, Jednostka delegująca: Uniwersytet Jagielloński
  8. Niemcy, Brema, Bruker Daltonics (4 dni) 2012 r., - intensive training in mass spectrometry, Jednostka delegująca: Uniwersytet Jagielloński
  9. Grecja, September 2014, University of Thessaloniki, LLP-ERASMUS PROGRAMME INDIVIDUAL TEACHING PROGRAMME FORTEACHING STAFF MOBILITY ACADEMIC YEAR 2013/2014, delegated by Faculty of Chemistry, Jagiellonian University, 6 days, UJ.
  10. Wielka Brytania, Londyn, 28-30 listopada 2014 r., „HPLC Analytical Method Development and Validation” stypendium przyznane przez kapitułę Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich "Nauki molekularne dla medycyny" MOL-MED - szkolenie naukowe.
  11. Czechy, Hradec Králové, (6 dni) 2015 r., Charles University, Faculty of Pharmacy, LLP-ERASMUS PROGRAMME INDIVIDUAL TEACHING PROGRAMME FORTEACHING STAFF MOBILITY ACADEMIC YEAR 2014/2015, Jednostka delegująca: Uniwersytet Jagielloński
  12. Wielka Brytania, Londyn, 14-17 października 2015 r., QbD and Lifecycle Management for Analytical Methods, stypendium przyznane przez kapitułę Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich "Nauki molekularne dla medycyny" MOL-MED - szkolenie naukowe
  13. Hiszpania, Barcelona (6 dni) 2016 r., Universitat of Barcelona, faculty of Analytical Chemistry, LLP-ERASMUS PROGRAMME INDIVIDUAL TEACHING PROGRAMME FORTEACHING STAFF MOBILITY ACADEMIC YEAR 2015/2016, Jednostka delegująca: Uniwersytet Jagielloński
  14. Hiszpania, Madryt (7 dni) 2017 r., Universidad Complutense de Madrid, LLP-ERASMUS PROGRAMME INDIVIDUAL TEACHING PROGRAMME FORTEACHING STAFF MOBILITY ACADEMIC YEAR 2016/2017, Jednostka delegująca: Uniwersytet Jagielloński

#### Inne szkolenia zawodowe:

1. Kraków, 9-10 października 2014, Akademia pipetowania i dobra praktyka ważenia, organizator firma Sartorius
2. Kraków, 4 grudnia 2014, Oględziny miejsca zdarzenia – nietypowe przypadki? Organizator koło naukowe European Law Students Association ((ELSA), Wydział Prawa UJ
3. Kraków 4-6 grudnia 2014, Oględziny miejsca przestępstwa-zbrodnia i kara, Organizator koło naukowe European Law Students Association ((ELSA), Wydział Prawa UJ.
4. Warszawa, 2-3 marca 2015, prowadzący, Tim Bentham zarządzanie projektami badawczymi, Projekt Skills, POKL, Organizator Fundacja na Rzecz Nauki Polskiej
5. Kraków, 16 czerwca 2015, Szkolenie z zakresu pierwszej pomocy przedmedycznej, organizator EMERGROUPE

#### 14. Działalność dydaktyczna na rzecz Wydziału Chemii UJ:

1. I. Maciejowska, R. Wietecha-Posłuszny, D. Nowak-Adamczyk, M. Ziemnicka, M. Perdeus-Białek „Wyrównywanie szans – osoby niepełnosprawne na studiach przyrodniczych, rozdział

- w podręczniku „Kształcenie studentów chemii (wersja internetowa on-line) <http://www.chemia.uj.edu.pl/maciejow/skrypt/index.htm>
2. R. Wietecha-Posłuszny „Analiza materiału biologicznego – jednoczesne oznaczanie selenu i arsenu metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej”, rozdział w podręczniku „Kształcenie studentów chemii” (wersja internetowa on-line) <http://www.chemia.uj.edu.pl/maciejow/skrypt/index.htm>
  3. R. Wietecha-Posłuszny, M. Woźniakiewicz, „Regulamin ćwiczeń laboratoryjnych – laboratorium Chemia analityczna II, rozdział w podręczniku „Kształcenie studentów chemii” (wersja internetowa on-line) <http://www.chemia.uj.edu.pl/maciejow/skrypt/index.htm>
  4. W ramach dydaktycznego Projektu programu TEMPUS nr JEP\_41105\_2006 pt. „Education System in Forensic Sciences for the Republic of Macedonia” (EDUFORMAK), EU, okres realizacji (2007 – 2009), opracowano ćwiczenia z zakresu Chemii Sądowej. R. Wietecha-Posłuszny - „The examination of biological samples by atomic fluorescence spectrometry for forensic and clinical purpose” oraz R. Wietecha-Posłuszny - „Laboratory Class for Forensic Chemistry Students” – wersja anglojęzyczna
  5. W ramach dydaktycznego międzynarodowego projektu programu Socrates-Comenius CITIES współpraca Uniwersytetu we Frankfurcie oraz Uniwersytetu Jagiellońskiego (2007-2009) opracowano: H. J. Bader, M. Rothweil, I. Maciejowska, R. Wietecha-Posłuszny, „Chemia sądowa - zajęcia praktyczne”, Chemia w szkole, 276, 14-21 2008
  6. Szkolenie dla doktorantów z zakresu dydaktyki nauczania chemii w szkołach wyższych, 10-12 czerwca 2005 r., Ząb k/ Zakopanego - jako kadra dydaktyczna. Prezentacja zagadnień związanych z problemowym nauczaniem młodzieży w szkołach wyższych.
  7. Szkolenie dla doktorantów z zakresu dydaktyki nauczania chemii w szkołach wyższych, 13-15 października 2006 r., Ząb k/ Zakopanego - jako kadra dydaktyczna. Prezentacja: Równe szanse w dostępie do edukacji.
  8. Chemistry and Industry for Teachers in European Schools (CITIES Programme) translation and consultation. Forensic experiment and Forensic Theory, Hans Joachim Bader and Martin Rothweil, 2009-2010 – szkolenie zawodowe
  9. W ramach programu TEMPUS nr JEP\_41105\_2006 pt. „Education System in Forensic Sciences for the Republic of Macedonia” (EDUFORMAK), EU, prowadzenie szkolenia: Renata Wietecha-Posłuszny, Application of case study and role-playing in forensic chemistry education for Macedonian Staff, Macedonia, Scopje 2010.
  10. Dla kierunku: Advance Spectroscopy Chemistry na WChUJ opracowano cykl wykładów z zakresu kryminalistyki: R. Wietecha-Posłuszny „Introduction to criminalistics” R. Wietecha-Posłuszny, „Areas of criminalistic examinations” – wersja anglojęzyczna
  11. Dla kierunku: Advance Spectroscopy Chemistry na WChUJ opracowano cykl ćwiczenia z zakresu Chemii Sądowej: R. Wietecha-Posłuszny „Crime Scene investigation oraz R. Wietecha-Posłuszny „Trace analysis in forensic examination” – wersja anglojęzyczna
  12. Instrukcja do ćwiczenia w ramach zajęć z zakresu „Chemicznych badań kryminalistycznych i toksykologicznych” pt. „Analiza materiału biologicznego - jednoczesne oznaczanie selenu i arsenu metodą atomowej spektrometrii fluorescencyjnej”.
  13. Warsztaty dla magistrantów z zakresu: projektowania laboratorium, planowania procedur analitycznych, oceny ryzyka realizowanych projektów oraz public relation (Laboratory of Forensic Chemistry – do it yourself) w ramach projektu ArsDocendi.
  14. Wprowadzenie zagadnienia „Problems of Base Learning” w praktyce laboratoryjnej dla specjalizacji Chemia Sądowa i Chemia Analityczna II.
  15. Opracowanie ćwiczenia pokazowego (5 godz.) z zakresu chromatografii dla kierunku Inżynieria Materiałowa.
  16. Opracowanie multimedialnych materiałów na potrzeby kształcenia studentów specjalizacji „Chemia sądowa” na Wydziale Chemii UJ.

17. Opracowanie ćwiczeń laboratoryjnych oraz zredagowanie skryptu dla nowego kierunku Chemia Medyczna – do kursu Chemia analityczna z elementami bioanalizy
18. Uruchomienia stanowiska do analiz chromatograficznych HPLC dla kierunku „Chemia medyczna”.
19. Kierowanie Panelem Chemia sądowa i konserwatorska, semestr 2015/ 2016, opracowanie sylabusów, prowadzenie zajęć, koordynacja zespołu prowadzącego zajęcia.
20. utworzenie nowych kursów dla Panelu Chemia sądowa, semestr 2016/2017, opracowanie sylabusów, utworzenie nowych kursów z zakresu chemii sądowej.

## 15. Prowadzone zajęcia dydaktyczne:

### Kierunek Chemia

1. Chemia Analityczna I – laboratoria - I rok
2. Chemia Analityczna I – konwersatoria - I rok
3. Nano-materiały – laboratoria - I rok
4. Inżynieria Materiałowa – ćwiczenia multimedialne - II rok
5. Analiza Chemiczna – seminaria – III rok
6. Chemiczne badania kryminalistyczne i toksykologiczne – laboratoria - IV rok
7. Metody analityczne w chemii sądowej – wykład - IV rok
8. Zastosowanie metod i technik analitycznych w badaniach sądowych – laboratoria dla panelu Chemia Sądowa- IV rok
9. Analiza instrumentalna – laboratoria - IV rok
10. Metody instrumentalne w analizie środowiskowej i farmaceutycznej – laboratoria dla panelu Analityka w ochronie środowiska i zdrowia - IV rok
11. Forensic Chemistry – wykład anglojęzyczny - IV rok
12. Forensic Chemistry – laboratoria – wersja anglojęzyczna – IV rok
13. Seminarium magisterskie dla Panelu Chemia Sądowa – V rok

### Kierunek Chemia Medyczna

1. Chemia analityczna z elementami bioanalizy – konwersatorium – I rok
2. Chemia analityczna z elementami bioanalizy – laboratorium – I rok

### Studia podyplomowe na Wydziale Chemii UJ:

1. Osiągnięcia współczesnej chemii I - wykłady
2. Nowoczesne techniki analityczne w badaniach obiektów zabytkowych - wykłady
3. Nowoczesne techniki analityczne w badaniach obiektów zabytkowych - laboratoria

## 16. Działalność organizacyjna na rzecz Wydziału Chemii UJ

1. Członek Rady Wydziału – 01.10.2006 – 30.09.2008
2. Członek Rady Wydziału – 01.10.2012 – 30.09.2016
3. Członek Rady Wydziału – 01.10.2016 – 30.09.2020
4. Udział w tworzeniu Pracowni Chemii Sądowej UJ od 2000 roku

5. Wybór wyposażenia, organizacja przetargów i zakup sprzętu do PChS w ramach projektu the European Regional Development Fund under the Innovative Economy Programme (POIG 01.03.01-00-014/08-00).
6. Pozyskiwanie zleceń dla PChS UJ
7. Coroczna prezentacja Pracowni Chemii Sądowej oraz ćwiczenia pokazowe dla uczniów szkół średnich i szkół wizytujących wydział zorganizowanych w ramach Dni Otwartych Wydziału Chemii.
8. Prezentacja Pracowni Chemii Sądowej i prowadzonych w niej badań dla gości zagranicznych zwiedzających WChUJ.
9. Prezentacja Panelu Chemia Sądowa w ramach Dni Otwartych Paneli Wydziału Chemii UJ.
10. Współorganizacja i udział w pokazach w ramach cyklicznego wydarzenia - Festiwalu Nauki i Nocy Naukowców – 2 wykłady otwierające zwiedzanie Wydziału Chemii UJ.
11. Członek zespołu pracującego na rzecz wyposażenia nowego Campusu Wydziału Chemii UJ (m.in. wybór mebli laboratoryjnych – spotkania z producentami mebli, wyjazdy na targi, projektowanie pokoi pracowniczych, przygotowywanie opisów do przetargu itp.)
12. Członek Zespołu ds. współpracy z otoczeniem zewnętrznym, działającego w ramach pozyskania dofinansowania na utworzenie Centrum Badawczo-Rozwojowego Wydziału Chemii UJ w ramach Działania 1.1 Infrastruktura Badawcza Sektora Nauki Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Małopolskiego na lata 2014-2020 – pozyskiwanie listów intencyjnych.
13. Członek zespołu odpowiedzialnego za aktualizację strony [www.chemia.uj.edu.pl](http://www.chemia.uj.edu.pl)
14. Pomysłodawca i inicjator spotkań na Wydziale Chemii, Młodych Chemików Sądowy ze specjalistami z dziedziny Chemii sądowej i medycyny sądowej.
15. Współorganizator licznych konferencji krajowych i międzynarodowych, organizacja, pozyskiwanie sponsorów, wystawców, prowadzeni sesji, działalność w komitetach naukowych.
16. Kierowanie Panelem Chemia Sądowa i Konserwatorska 2015/2016.
17. Kierowanie Panelem Chemia Sądowa 206/2017, tworzenie nowych kursów wykładów i ćwiczeń). Koordynowanie kursów.

### **Członkostwo w Towarzystwach Naukowych:**

1. Polskie Towarzystwo Toksykologiczne od 2004 - członkostwo
2. Towarzystwo Asystentów UJ od 2004 - członkostwo
3. Polskie Towarzystwo Chemiczne od 2004 do 2010 - członkostwo
4. Polskie Towarzystwo Toksykologiczne od 2015 - członek Zarządu Krakowskiego Oddziału Towarzystwa Toksykologicznego.
5. Polskie Towarzystwo Toksykologiczne od 2017 - v-ce przewodnicząca Krakowskiego Oddziału Towarzystwa Toksykologicznego

### **Nagrody i wyróżnienia:**

26.02.2001 - Nagroda Dra. Jana Zygmunta Robla za najlepszą pracę magisterską z dziedziny nauk sądowych

2011 – Nagroda Rektora Zespołowa Naukowa I stopnia za cykl publikacji naukowych w 2011 roku



- 2011- Nagroda Zespołowa I stopnia za działalność organizacyjną PKCA 2010
- 2012 - Nagroda Zespołowa II stopnia za działalność organizacyjną ICFA2011
- 2013 - Nagroda Rektora zespołowa II st. za cykl publikacji naukowych w 2012
- 2014 - Nagroda zespołowa II stopnia organizacyjna Winter Plasma 2013
- 2015 - Medal Brązowy za Długoletnia Służbę
- 2016 - Nagroda Rektora Zespołowa II stopnia za osiągnięcia dydaktyczne oraz organizacyjne
- 2017 - Nagroda Rektora Zespołowa III stopnia za osiągnięcia dydaktyczne oraz organizacyjne

### **Współpraca naukowa z ośrodkami o zasięgu krajowymi i międzynarodowym**

1. Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie, (Zespół ekspertów)
2. Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera w Krakowie, (Zespół ekspertów)
3. Zakład Zaburzeń Afektywnych, Katedra Psychiatrii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, (prof. dr hab. Dominika Dudek)
4. Zakład Medycyny Sądowej Collegium Medicum, UJ, Kraków, (Zespół ekspertów)
5. Zakład Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (Zespół ekspertów)
6. Zakład Bromatologii, Wydział Farmacji, Collegium Medicum, UJ, Kraków (dr hab. Paweł Zagrodzki)
7. Katedra Farmakodynamiki i Farmakologii Molekularnej, Wydział Farmaceutyczny, Colegium Medicum w Bydgoszczy (prof. dr hab. Barbara Bojko)
8. Department of Chemistry, University of Waterloo, Canada (prof. dr hab. Janusz Pawliszyn)

