



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

Ενόργανη Ανάλυση II

Ενότητα 1: Θεωρία Χρωματογραφίας
4^η-5^η Διάλεξη

Θωμαΐδης Νικόλαος
Τμήμα Χημείας
Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας

ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ
ΜΗ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ: Υγρό

ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ:

1. Στερεά σωματίδια → Χρωματογραφία υγρού-στερεού
(Χρωματογραφία Προσρόφησης)
2. Υγρό που συγκρατείται πάνω σε μια αδρανή στερεά επιφάνεια → Χρωματογραφία υγρού-υγρού
(Χρωματογραφία Κατανομής)

Με εφαρμογή υψηλής πίεσης η κινητή φάση διέρχεται μέσα από τη στατική ⇒

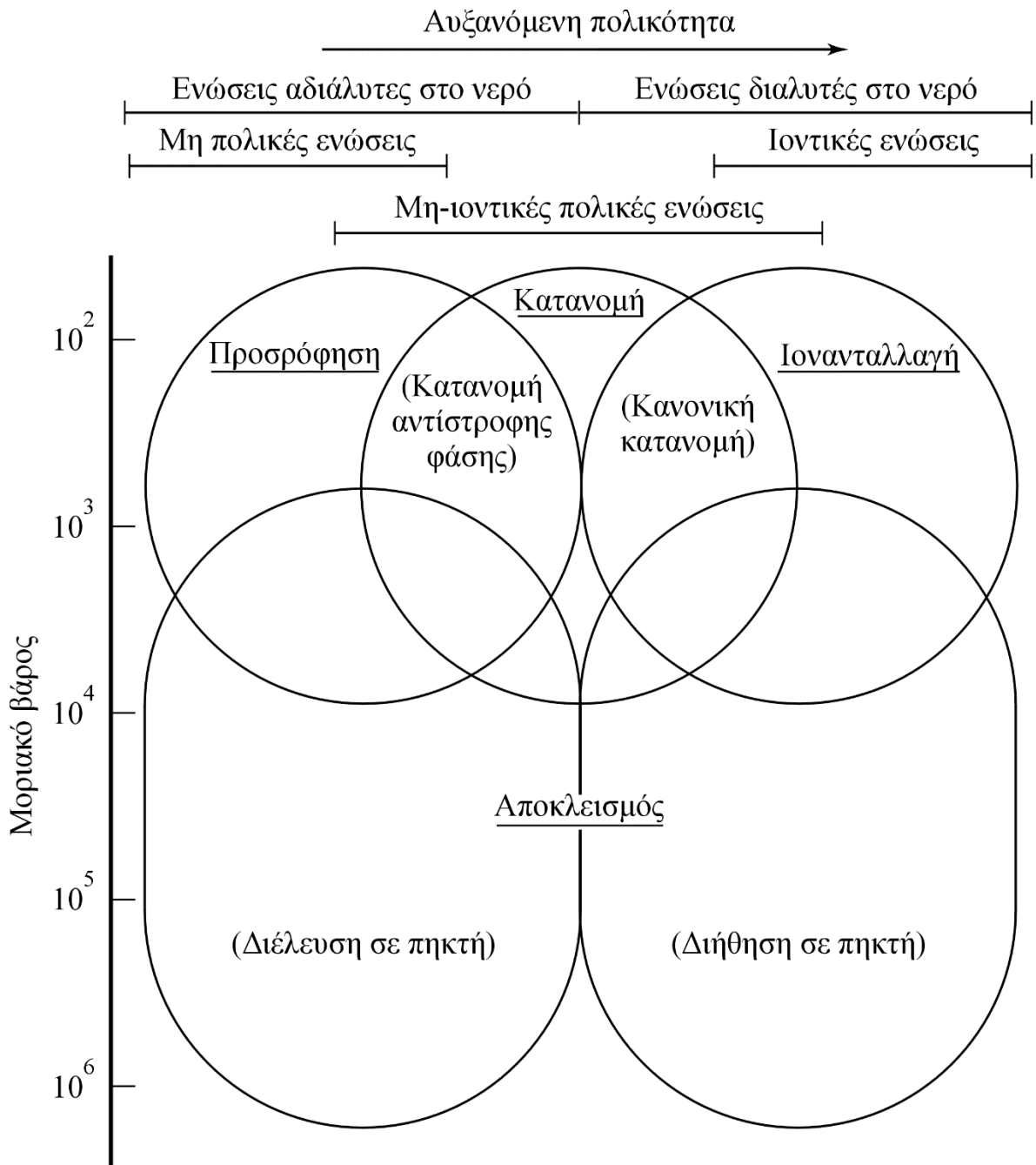
ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΕΩΣ (HPLC)

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΩΝ:

1. Προσρόφηση
2. Κατανομή
3. Ιονανταλλαγή
4. Μοριακός αποκλεισμός (στερεο-παρεμπόδιση)

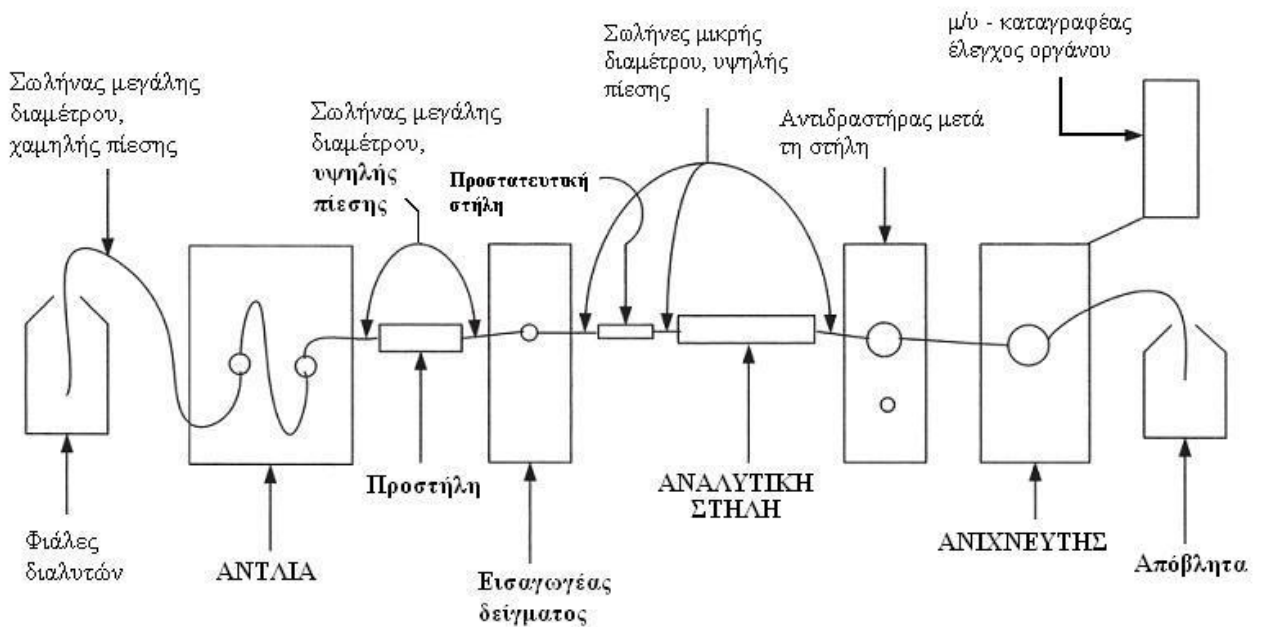


ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΑΡΟΧΗΣ ΚΙΝΗΤΗΣ ΦΑΣΗΣ

Απαέρωση διαλυτών:

- Συνεχής διοχέτευση αδρανούς αερίου (He)
- Διήθηση υπό κενό
- Χρήση ειδικών μεμβρανών

Οι διαλύτες αναμιγνύονται στο **θάλαμο αναμίξεως** πριν την προώθηση προς την αντλία

Ισοκρατική έκλουση (isocratic elution)

Για το διαχωρισμό χρησιμοποιείται διαλύτης σταθερής σύστασης

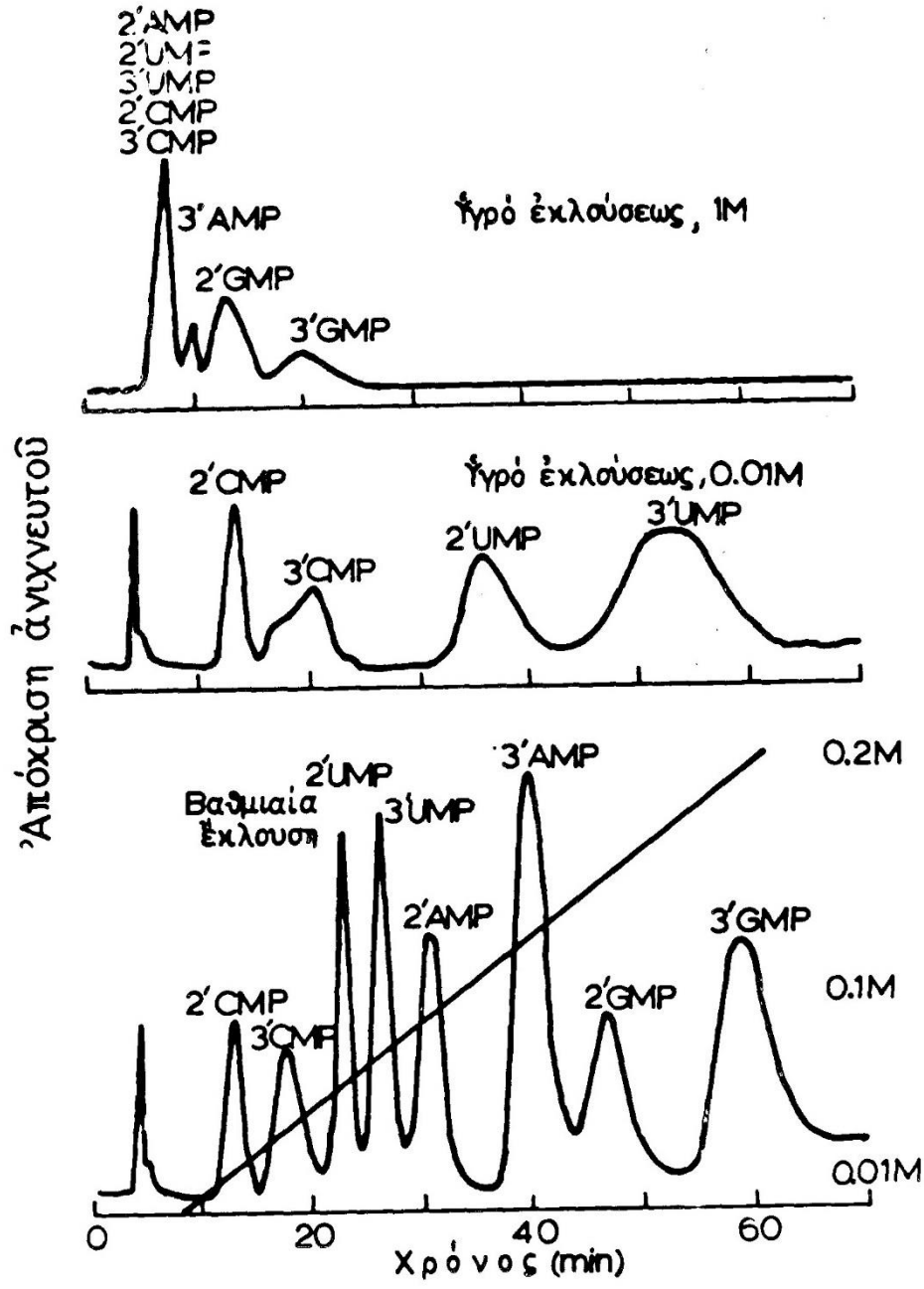
Βαθμιδωτή έκλουση (gradient elution)

Ο λόγος των διαλυτών μεταβάλλεται κατά το διαχωρισμό με προγραμματισμένο τρόπο (συνεχώς ή με σειρά βημάτων)

- ▶ Προκαλεί μεταβολή του παράγοντα κατακράτησης, k'
- ▶ Βελτιώνει το χρόνο διαχωρισμού χωρίς μείωση της R_s



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ



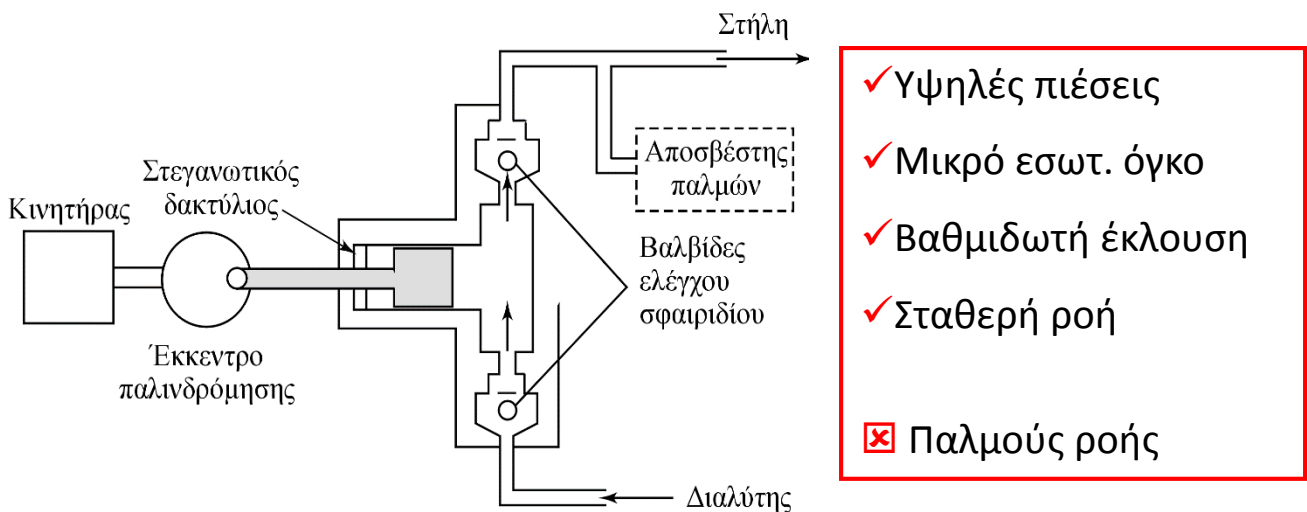
ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΑΝΤΛΙΑ

Πρέπει να :

- Επιτυγχάνει υψηλή πίεση (1000 – 6000 psi ή 70 – 400 Atm)
- Είναι απαλλαγμένη από παλμούς ροής
- Επιτυγχάνει ταχύτητες ροής 0,1 – 5 ml/min με επαναληψιμότητα 0,5% ή καλύτερη
- Αποτελείται από τμήματα ανθεκτικά στη διάβρωση

➤ Παλινδρομικές αντλίες



➤ Αντλίες εκτόπισης

Μεγάλος θάλαμος τύπου σύριγγας

Ροή ανεξάρτητη από οπισθοπίεση και ιξώδες διαλύτη

Χωρίς παλμούς

Δυσκολία κατά την αλλαγή διαλυτών

➤ Πνευματικές αντλίες

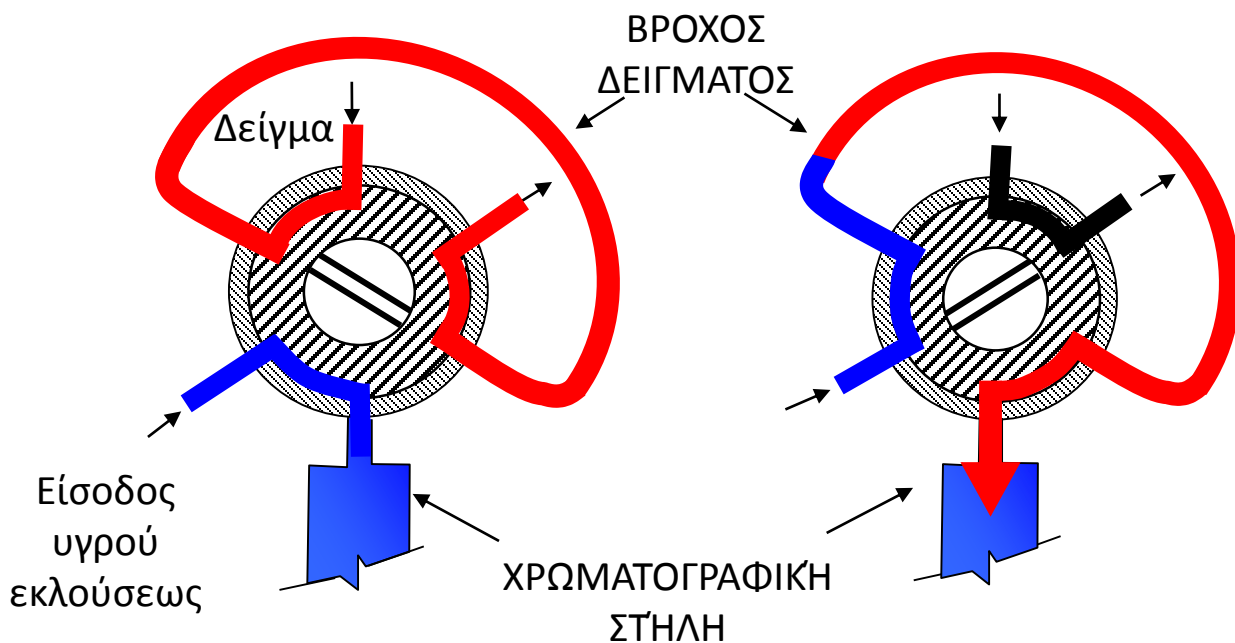
Άντληση με πεπιεσμένο αέρα – Απλές, φθηνές, χωρίς παλμούς

Χαμηλή πίεση, ροή που εξαρτάται από το ιξώδες και την οπισθοπίεση της στήλης – ΟΧΙ ΒΑΘΜΙΔΩΤΗ ΕΚΚΛΟΥΣΗ



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ



(α) Θέση "φορτώσεως"

(β) Θέση εισαγωγής



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΣΤΗΛΕΣ

Ευθύγραμμοι σωλήνες από ανοξειδωτο χάλυβα μήκους 10 – 30 cm και διαμέτρου 1 – 5 mm (4,6 mm)

Υλικά στηρίξεως ή πληρώσεως της στήλης:

- **Μικροπορώδη σωματίδια** διαμέτρου 3-10 μm (5 μm):
Αποτελούνται από SiO_2 , αλουμίνα, πολυμερή στυρενίου-διβινυλοβενζολίου ή ιονανταλλακτικές ρητίνες
Επικαλύπτονται με λεπτό οργανικό στρώμα, συνδεδεμένο με φυσικό ή χημικό τρόπο
- **Μακροπορώδη σωματίδια** διαμέτρου 60 μm :
 SiO_2 , αλουμίνα ή εμπορικά υλικά, χωρίς υγρό φορέα
- **Υμενοειδή σφαιροειδή σωματίδια** διαμέτρου 30-40 μm :
Σφαιρικά, μη πορώδη σωματίδια από πολυμερές ή γυαλί, στα οποία αποτίθεται λεπτό πορώδες στρώμα και λεπτή υγρή στατική φάση.
Για προστήλες

► Προστήλες (προστατευτικές στήλες)

Προστασία της αναλυτικής στήλης :

Απομακρύνονται τα συστατικά του δείγματος που συνδέονται **μη αντιστρεπτά** με τη στατική φάση

Αντικαθίσταται συχνά

► Θερμοστάτες στήλης

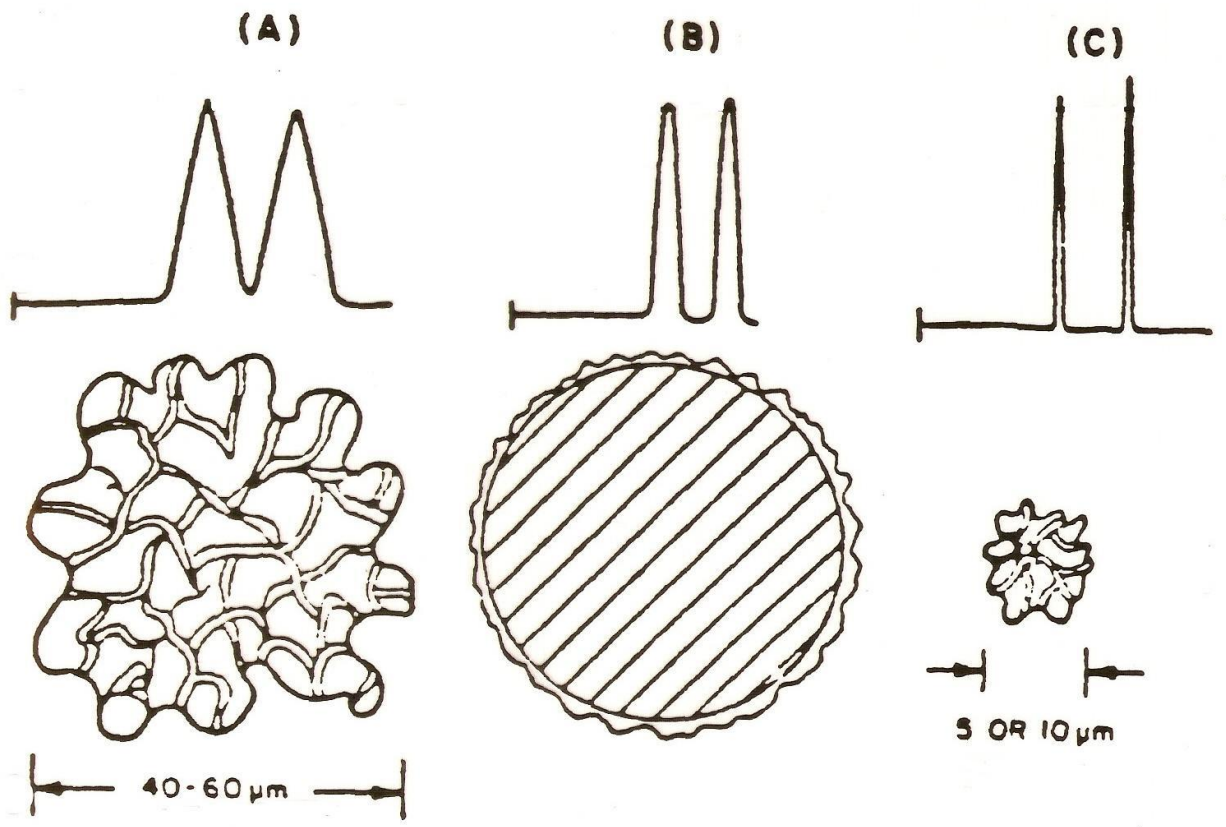
Θερμοκρασίες μέχρι 100°C:

Αύξηση της Θ μειώνει το χρόνο ανάσχεσης και αυξάνει τον αριθμό των θεωρητικών πλακών



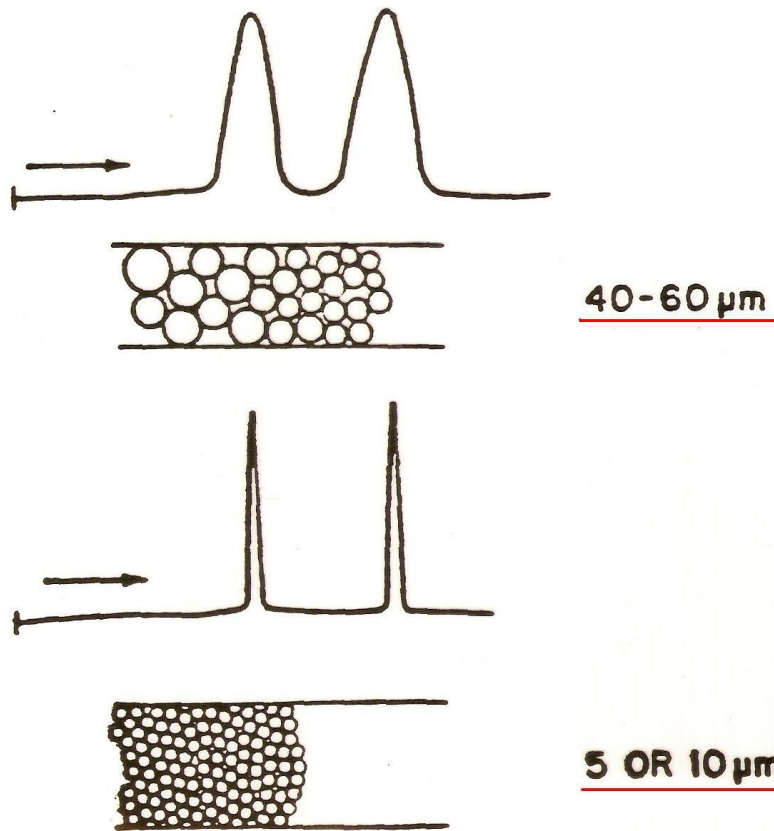
ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Επίδραση της διαμέτρου και των ειδών
σωματιδίων στο διαχωρισμό και στην
πλήρωση στήλης



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Επίδραση της διαμέτρου και των ειδών σωματιδίων στο διαχωρισμό και στην πλήρωση στήλης



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ:

Ιδανικά χαρακτηριστικά

- Ικανοποιητική ευαισθησία, χαμηλά όρια ανίχνευσης (ng – μg) και χαμηλό θόρυβο
- Σταθερότητα και αναπαραγωγικότητα
- Γραμμική απόκριση για μεγάλη περιοχή συγκεντρώσεων
- Να μην επηρεάζεται από μεταβολές θερμοκρασίας και ταχύτητας ροής της κινητής φάσης
- Μικρό χρόνο απόκρισης, ανεξάρτητος από την ταχύτητα ροής
- Να μην αποκρίνεται στην κινητή φάση
- Να έχει ομοιόμορφη απόκριση για όλες της ουσίες (**γενικός ανιχνευτής**) ή να έχει γνωστή εκλεκτικότητα απόκρισης (**ειδικός ανιχνευτής**)
- Να έχει αμελητέο νεκρό όγκο ώστε να μη συμμετέχει στη διεύρυνση της ζώνης (κορυφής) κάθε συστατικού

ΤΥΠΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΤΩΝ:

- Απόκριση σε μια **βασική ιδιότητα της κινητής φάσης**, η τιμή της οποίας μεταβάλλεται από την παρουσία του εκλουόμενου συστατικού (δείκτης διάθλασης, διηλεκτρική σταθερά, πυκνότητα)
- Απόκριση σε μια **ιδιότητα του εκλουόμενου συστατικού**, την οποία να μη διαθέτει η κινητή φάση (απορρόφηση, φθορισμός, ρεύμα διάχυσης)



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ (UVD):

Μέτρηση της απορροφήσεως στο UV ή στο ορατό

Η ευαισθησία του εξαρτάται από την μοριακή απορροφητικότητα των διαφόρων συστατικών

Συγκεντρώσεις: από $\mu\text{g/L}$ έως mg/L

- Σταθερού μήκους κύματος:

Φωτόμετρα φίλτρου με λυχνία Hg

Φίλτρα: 254, 334, 365 nm

- Μεταβαλλόμενου μήκους κύματος:

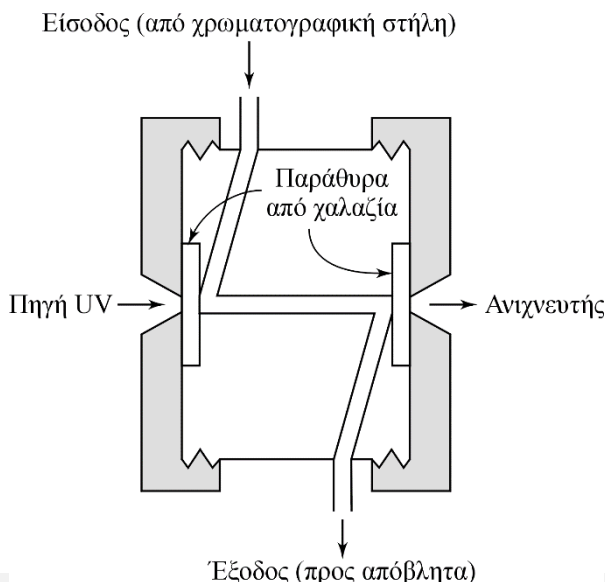
Φασματοφωτόμετρα σάρωσης με οπτικό φράγμα Επιλέγονται διαφορετικά μήκη κύματος για κάθε κορυφή

Πηγή: Λυχνία δευτερίου ή/και βολφραμίου

- Ανιχνευτής με συστοιχία διόδων (DAD):

Πλήρες φάσμα – Ταυτοποίηση κορυφών

Κυψελίδα ροής



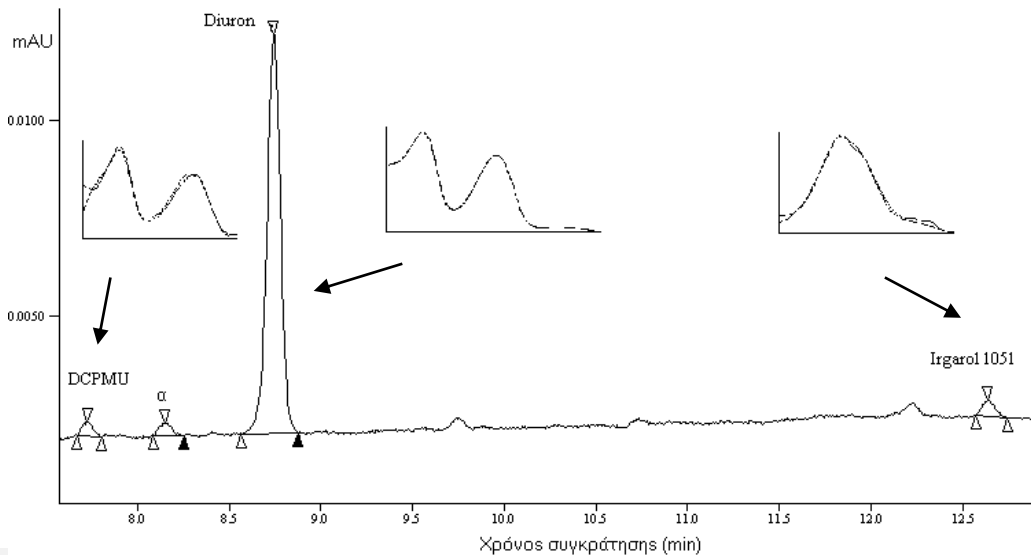
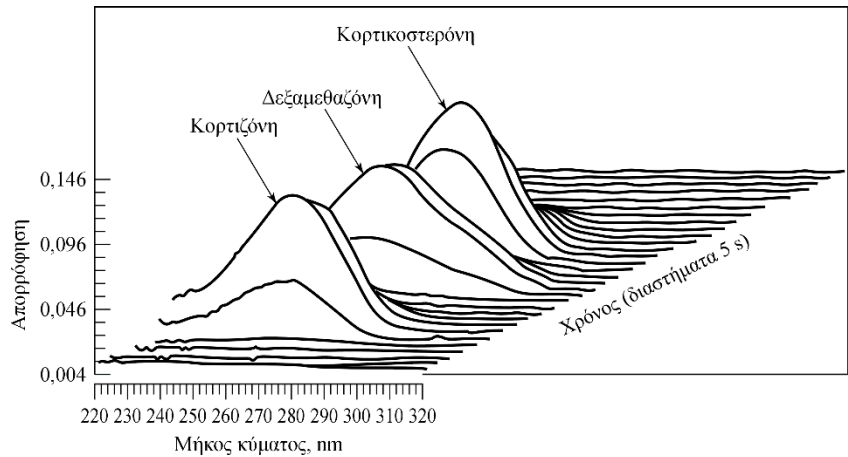
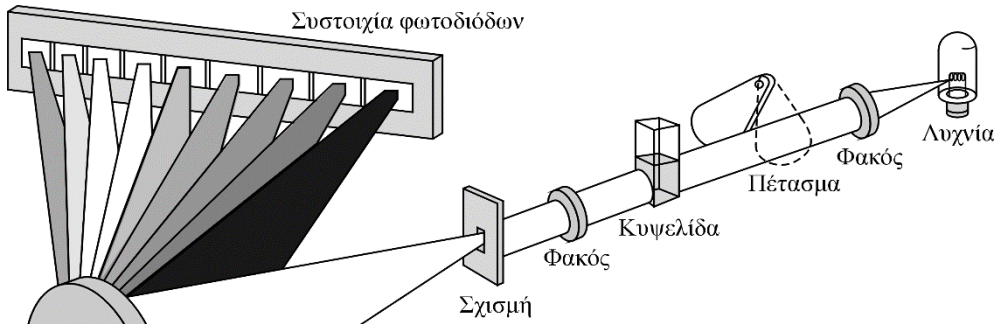
Όγκος: 1-10 μL

Μήκος: 2-10 mm



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Ανιχνευτής με συστοιχία διόδων (DAD):



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ (FLD):

Μέτρηση φθορισμού (σε γωνία 90°) μετά από διέγερση

Μεγάλη ευαισθησία: τουλάχιστον μια τάξη μεγέθους σε σχέση με τον UVD

Πηγές: λυχνία Hg ή Xe με φίλτρα ή μονοχρώματα

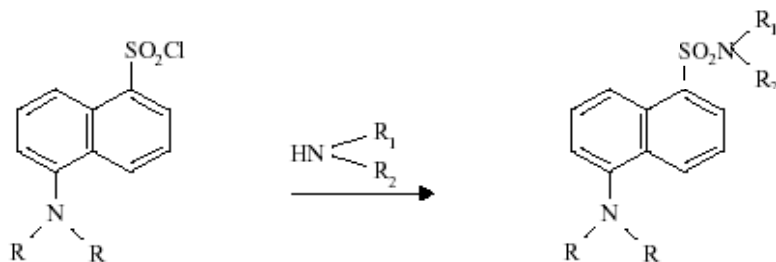
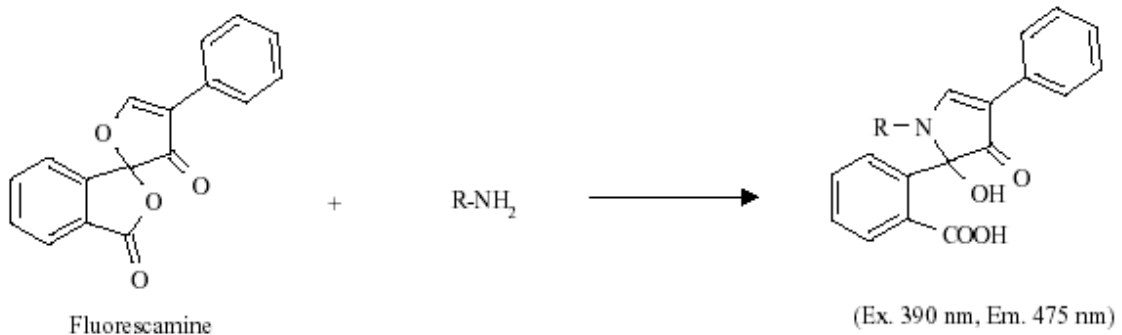
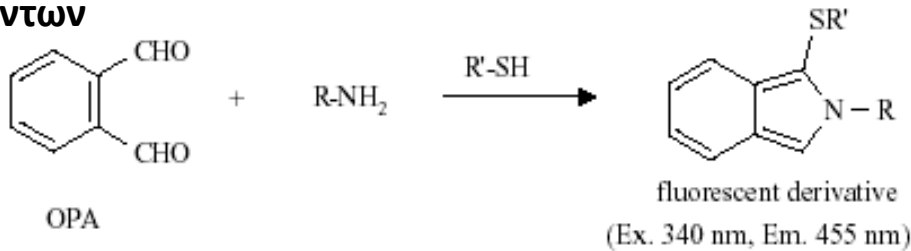
Αντιδράσεις παραγωγοποίησης

Εισαγωγή φθορίζουσας ομάδας στο μόριο

• Πριν της LC ή μετά από το διαχωρισμό (post-column derivatization)

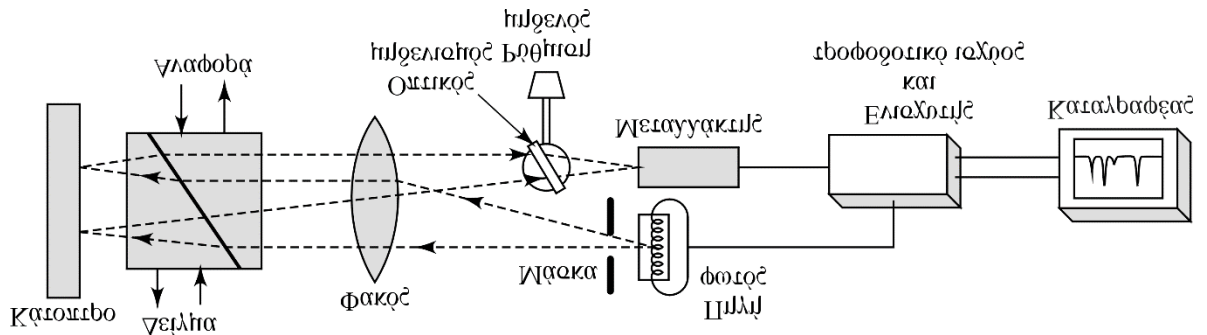
• Σημαντικά:

η απόδοση της αντίδρασης και η σταθερότητα των προϊόντων



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΔΕΙΚΤΗ ΔΙΑΘΛΑΣΗΣ (Δ.Δ.):



- Μετράει τη διαφορά του δείκτη διάθλασης (Δ.Δ.) του καθαρού διαλύτη της κινητής φάσης και του Δ.Δ. του εκλούσματος
- Γενικός ανιχνευτής
- Δεν επηρεάζεται από τη ροή
- Επηρεάζεται σημαντικά από τη θερμοκρασία
- Δεν είναι ευαίσθητος (κύρια συστατικά, πχ σάκχαρα)

ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΣΚΕΔΑΣΗΣ ΦΩΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΞΑΤΜΙΣΗ:

- Το υγρό έκλυσης εκνεφούται και σχηματίζει νέφος μικροσταγονιδίων.
- Η κινητή φάση εξατμίζεται και σχηματίζονται στερεά σωματίδια του αναλύτη
- Αυτά σκεδάζουν ακτινοβολία ακτίνας λέιζερ
- Αποκρίνεται σε όλα τα μη πτητικά μόρια περίπου το ίδιο
- Σημαντικός για μεγαλομόρια (φάρμακα)
- Απαραίτητα η κινητή φάση να είναι πτητική (όχι άλατα)
- Όριο ανίχνευσης περίπου 0,2 mg/L



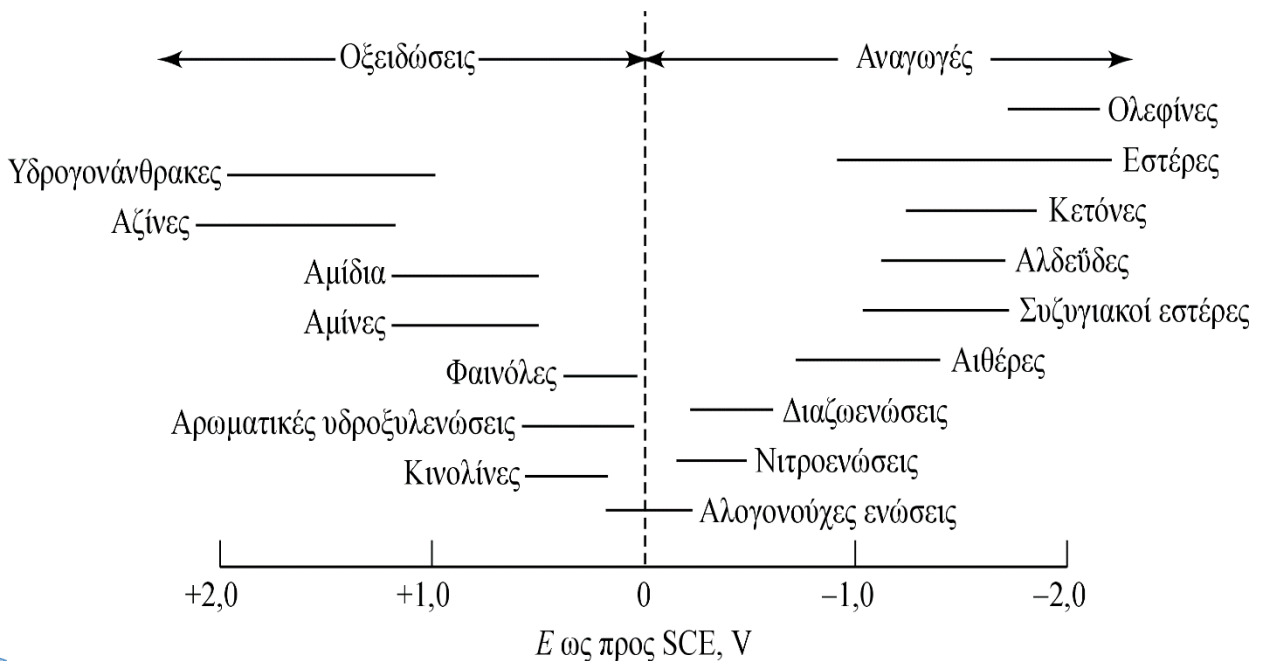
ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ:

- Αμπερομετρικοί ανιχνευτές (κυρίως)
- Αγωγιμομετρικοί
- Πολαρογραφία
- Κουλομετρικοί

Αμπερομετρικός ανιχνευτής σταθερού δυναμικού:

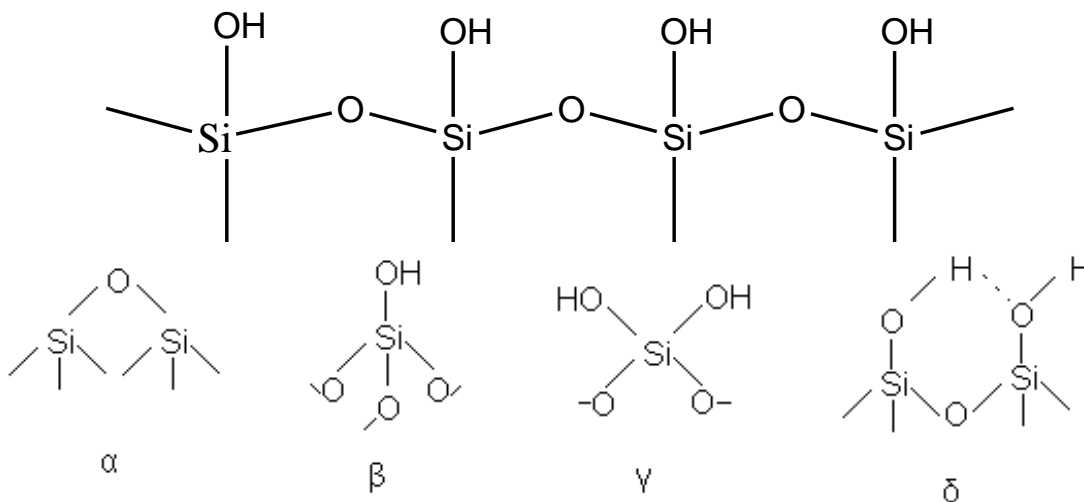
- Μετράει το ρεύμα κατά την αναγωγή ή οξείδωση κάποιας ουσίας
- Ανιχνεύει ηλεκτρενεργές ουσίες
- Πολύ ευαίσθητος
- Πολύ εκλεκτικός



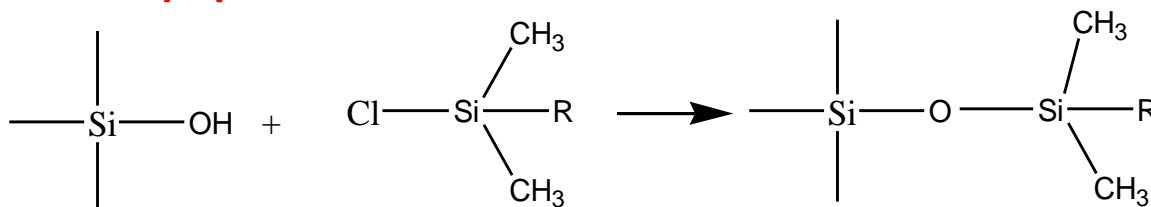
ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ

Χρωματογραφία συνδεδεμένης φάσης

Υπόστρωμα: πυριτία (silica)



Σιλιανοποίηση:



ΥΓΡΕΣ ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ:

ΠΟΛΙΚΕΣ:

R= $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ ή $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$

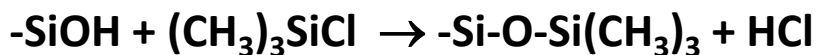
R= διόλες ή $-(\text{CH}_2)_3\text{CN}$

ΜΗ ΠΟΛΙΚΕΣ:

R= $-(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$ ΟΜΑΔΑ C18

R= $-(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ ΟΜΑΔΑ C8

Κάλυψη ελεύθερων σιλανολίων:



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ

Χρωματογραφία ΚΑΝΟΝΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ

Υγρή κινητή φάση: **ΜΗ ΠΟΛΙΚΗ**

Κυκλοεξάνιο, κ-εξάνιο, τετραχλωράνθρακας, τολουόλιο, αιθέρας...

Υγρή στατική φάση: **ΠΟΛΙΚΗ**

Συνδεδεμένα νιτρίλια ή αμίνες

Χρωματογραφία ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ

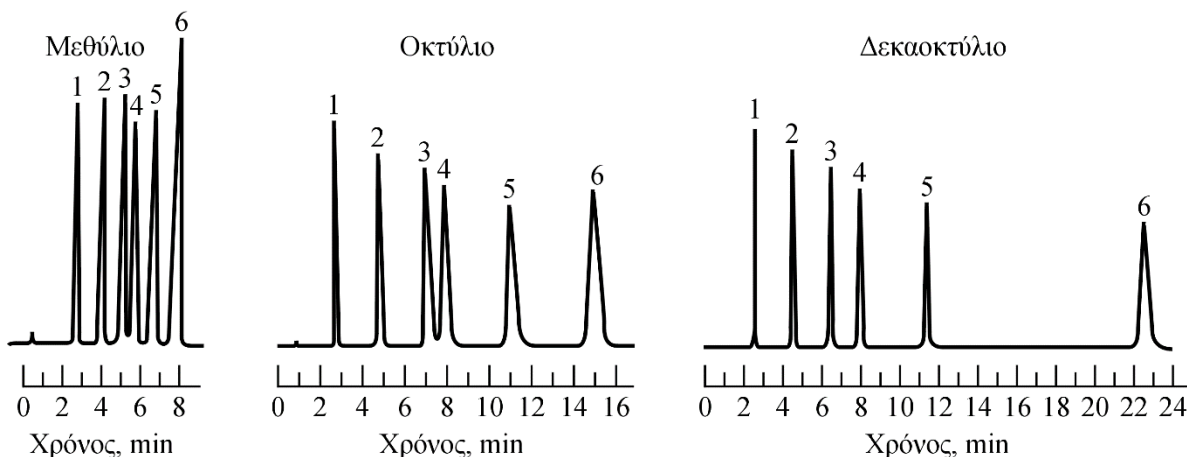
Υγρή κινητή φάση: **ΠΟΛΙΚΗ**

Μεθανόλη, ακετονιτρίλιο, τετραυδροφουράνιο, νερό, οξέα (οξικό οξύ, TFA), ρυθμιστικά διαλύματα (**pH<7.5**)

Υγρή στατική φάση: **ΜΗ ΠΟΛΙΚΗ**

Συνδεδεμένα οκτύλια (C8) ή δεκαοκτύλια (C18 ή ODS)

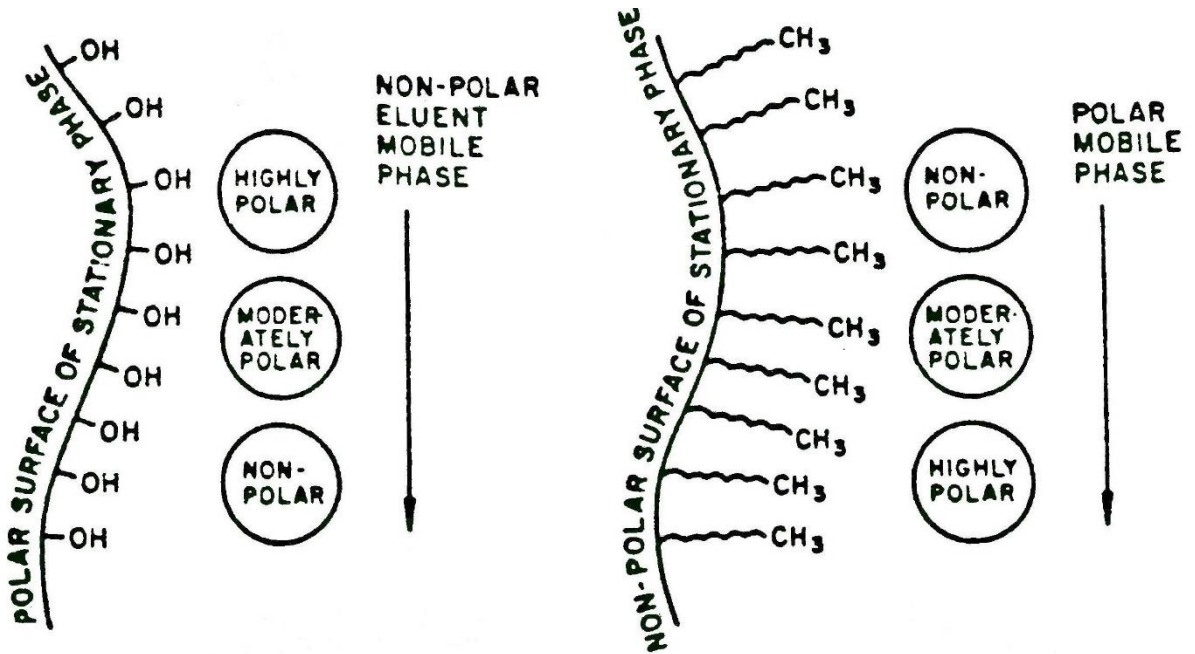
Ταυτοποίηση κορυφών : 1. Ουρακίλη 2. Φαινόλη 3. Ακετοφαινόνη
4. Νιτροβενζόλιο 5. Βενζοϊκό μεθύλιο 6. Τολουόλιο



Ικανότητα κατακράτησης: C18 > C8 > C1



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ



LC ΚΑΝΟΝΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ

1. ΜΗ ΠΟΛΙΚΟ
2. ΜΕΤΡΙΩΣ ΠΟΛΙΚΟ
3. ΠΟΛΙΚΟ

LC ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ

1. ΠΟΛΙΚΟ
2. ΜΕΤΡΙΩΣ ΠΟΛΙΚΟ
3. ΜΗ ΠΟΛΙΚΟ



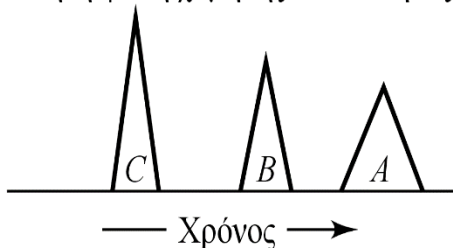
ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ

ΠΟΛΙΚΗ στατική φάση

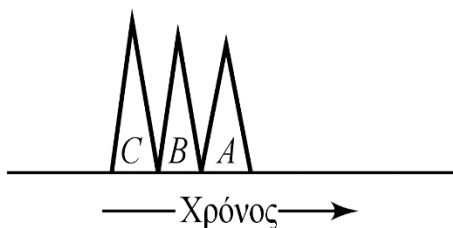
(α)

Χρωματογραφία κανονικής φάσης

Κινητή φάση χαμηλής πολικότητας



Κινητή φάση μέσης πολικότητας

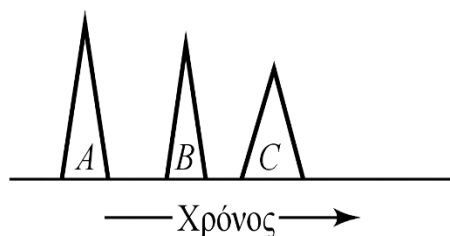


ΜΗ ΠΟΛΙΚΗ στατική φάση

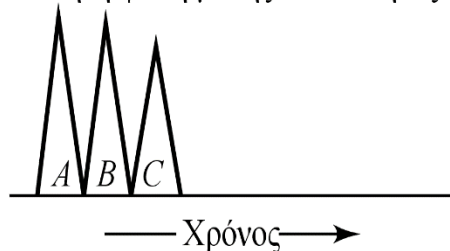
(β)

Χρωματογραφία αντίστροφης φάσης

Κινητή φάση υψηλής πολικότητας



Κινητή φάση μέσης πολικότητας



Πολικότητα διαχωριζόμενων ουσιών: $A > B > C$

Σε αντίθεση με την GC, στην LC η κινητή φάση αλληλεπιδρά με τα συστατικά του δείγματος και συμμετέχει στο διαχωρισμό

Με συγκεκριμένη στήλη (στατική φάση), η επιλογή του/των διαλύτη/των είναι ο κρίσιμος παράγοντας για επιτυχή διαχωρισμό (ρύθμιση του k')



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ

Χρωματογραφία ζεύγους ιόντων (ion-pair LC)

Προσδιορισμός ιοντικών ενώσεων με υγροχρωμα-τογραφία αντίστροφης φάσης

Η **πολική** κινητή φάση περιέχει και μια **ιοντική ουσία** η οποία παρέχει ένα **αντισταθμιστικό ιόν** αντίθετου φορτίου από τον αναλύτη

Το αντισταθμιστικό ιόν ενώνεται με το ιόν του αναλύτη και σχηματίζουν **ουδέτερο ζεύγος ιόντων**, το οποίο κατακρατείται από τη μη πολική στήλη :

Αναλύτης	Αντισταθμιστικό ιόν
AMINEΣ	$C_{12}H_{25}SO_3^-$ ή ClO_4^-
ΟΞΕΑ	$(C_4H_9)_4N^+$ $(C_8H_{17})_4N^+$



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗΣ

Χρωματογραφία υγρού – στερεού:

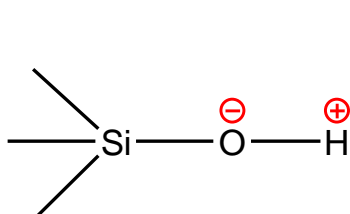
Διαχωρισμός με βάση τις σχετικές δυνάμεις προσρόφησης των μορίων του δείγματος προς τις ομάδες **-OH** του υποστρώματος

Υλικά στηλών:

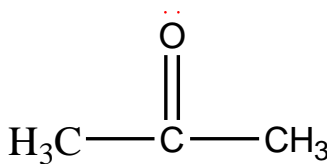
Μακροπορώδη σωματίδια διαμέτρου 60 μm : SiO_2 ή αλουμίνα, χωρίς υγρό φορέα

⇒ **ΠΟΛΙΚΗ ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ**

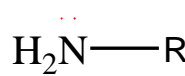
⇒ Οι πολικές ουσίες κατακρατούνται ισχυρά



ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ



ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ



ΑΝΑΛΥΤΗΣ

Σχετική κατακράτηση:

Ολεφίνες < Αρωματικοί HC < Χλωρίδια < Αιθέρες

< Νιτροενώσεις < Εστέρες \approx Αλδεύδες \approx Κετόνες

< Αλκοόλες \approx Αμίνες < Αμίδια < Καρβοξυλικά οξέα



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗΣ

Μειονέκτημα:

Μη γραμμικές ισόθερμες κυρίως για τις πολύ πολικές ενώσεις σε υψηλές συγκεντρώσεις

Οφείλεται στην ύπαρξη:

Ισχυρά κέντρα προσρόφησης (δεσμοί H, δίπολα) →

Κατακρατούν ισχυρά τις πιο πολικές ενώσεις του δείγματος

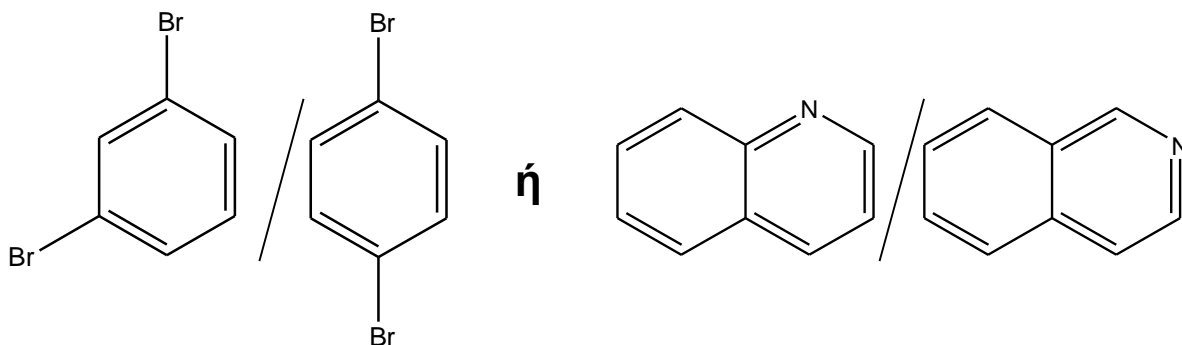
Ασθενή κέντρα προσρόφησης (δυνάμεις Van der Waals) →

κατακρατούν ασθενώς τις λιγότερες πολικές ενώσεις του δείγματος

Λύση:

Προσθήκη μικρής ποσότητας νερού στην κινητή φάση, οπότε τα ισχυρά κέντρα προσρόφησης καταλαμβάνονται από το νερό και αυξάνει η γραμμική περιοχή προσρόφησης των οργανικών ουσιών

ΕΦΑΡΜΟΓΗ: Διαχωρισμός ισομερών ενώσεων



Τέλος



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Σημειώματα



Σημείωμα Ιστορικού Εκδόσεων Έργου

Το παρόν έργο αποτελεί την έκδοση 1.0.

Έχουν προηγηθεί οι κάτωθι εκδόσεις:

- Έκδοση διαθέσιμη [εδώ](#).



Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Εθνικών και Καποδιστριακών Πανεπιστημίων
Αθηνών, Νικόλαος Θωμαΐδης 2015. Νικόλαος Θωμαΐδης.
«Ενόργανη Ανάλυση II». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015.

Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<http://opencourses.uoa.gr/courses/CHEM104>.



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



- [1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>
- Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:
 - που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
 - που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
 - που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο
- Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

