

Pengaruh Suhu dalam Pembuatan Fasa Diam Silika Hibrid Monolit sebagai Studi Awal untuk Kromatografi Cair Sistem Kapiler

Firda Furqani^{1*}, Ilona Bella¹, Prima Fitria Hillman¹, Lee Wah Lim²

¹Departemen Kimia, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

Department of Chemistry and Biomolecular Science, Faculty of Engineering, Gifu University, Gifu-shi, Yanagido 1-1, Japan

*Corresponding author.

*firda.furqani@sci.unand.ac.id

Abstrak

Penelitian ini merupakan studi awal mengenai pembuatan dan karakterisasi fasa diam silika hibrid monolit untuk aplikasi pada kromatografi cair sistem kapiler. Material monolit disintesis melalui metode sol-gel dengan menggunakan tetramethoxysilane (TMOS) dan (3-glisidoksipropil)trimetoksisilan (GPTMS) sebagai prekursor silika, yang dimodifikasi dengan asam amino sebagai monomer organik untuk memperkenalkan gugus fungsional polar pada permukaan. Variasi suhu polimerisasi reaksi (40, 50, dan 60 °C) dilakukan untuk menentukan kondisi optimum pembentukan monolit. Karakterisasi morfologi menunjukkan bahwa monolit pada 50 °C memiliki struktur berpori homogen dengan ukuran skeleton sekitar 1,4–2,0 µm, dengan nilai permeabilitas tertinggi sebesar $4,2 \times 10^{-13} \text{ m}^2$. Uji performa kromatografi dilakukan untuk menilai kemampuan kolom monolit dalam memisahkan dua analit model, yaitu urasil (senyawa polar) dan toluena (senyawa nonpolar), di mana waktu retensi urasil meningkat dari 1,2 menit menjadi 4,8 menit, sedangkan toluena mengalami penurunan waktu retensi dari 2,3 menit menjadi <1 menit pada komposisi asetonitril tertinggi. Kemampuan pemisahan yang ditunjukkan menandakan potensi material silika hibrid monolit ini untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai fasa diam pada sistem capillary liquid chromatography (CLC).

Kata kunci : Kromatografi cair sistem kapiler, Silika Hibrid Monolit, HILIC

Abstract

This study presents a preliminary investigation on the fabrication and characterization of a hybrid silica monolithic stationary phase for application in capillary liquid chromatography (CLC). The monolithic material was synthesized via a sol-gel process using tetramethoxysilane (TMOS) and (3-glycidoxypropyl)trimethoxysilane (GPTMS) as silica precursors, modified with an amino acid as the organic monomer to introduce polar functional groups onto the surface. Polymerization temperatures of 40, 50, and 60 °C were examined to determine the optimal conditions for monolith formation. Morphological characterization showed that the monolith prepared at 50 °C exhibited a homogeneous porous structure with skeleton sizes of 1.4–2.0 µm, along with the highest permeability value of $4.2 \times 10^{-13} \text{ m}^2$. Chromatographic performance was evaluated using two model analytes, uracil (polar) and toluene (nonpolar), where the retention time of uracil increased from 1.2 min to 4.8 min, while that of toluene decreased from 2.3 min to <1 min at the highest acetonitrile composition. The observed separation performance demonstrates the potential of this hybrid silica monolithic material for further development as an effective stationary phase for capillary liquid chromatography (CLC) applications

Keywords : capillary liquid chromatograph, Hybrid silica monolith, HILIC

Pendahuluan

Dalam kromatografi cair, kolom merupakan komponen utama yang sangat menentukan efisiensi, selektivitas, dan resolusi pemisahan. Secara umum, terdapat dua jenis kolom yang banyak digunakan, yaitu kolom kemas (packed column) dan kolom monolit (monolithic column). Kolom kemas tersusun dari partikel silika atau polimer berukuran mikrometer yang diisikan ke dalam tabung kolom. Meskipun memiliki efisiensi pemisahan yang tinggi, kolom jenis ini seringkali menghasilkan tekanan balik (back pressure) yang besar akibat terbatasnya jalur aliran fase gerak di antara partikel padatnya. Selain itu, pengemasan kolom harus dilakukan dengan ketelitian tinggi agar distribusi partikel seragam. Sebaliknya, kolom monolit terbentuk dari satu kesatuan padatan berpori yang disintesis langsung di dalam kapiler melalui proses polimerisasi in situ, menghasilkan struktur berpori tiga dimensi yang memungkinkan laju aliran lebih tinggi dan tekanan balik lebih rendah (Sharma et al., 2017). Struktur ini juga memperpendek jarak difusi analit, sehingga meningkatkan efisiensi pemisahan tanpa memerlukan tekanan tinggi.

Berdasarkan komposisinya, kolom monolit dapat dikategorikan menjadi tiga jenis utama, yaitu monolit organik, monolit anorganik berbasis silika, dan monolit hibrid organik–anorganik (Sharma et al., 2017). Monolit organik yang umumnya terbuat dari polimer metakrilat atau stirena-divinilbenzena memiliki fleksibilitas kimia tinggi dan mudah dimodifikasi, namun memiliki kelemahan berupa stabilitas mekanik dan termal yang rendah. Sebaliknya, monolit silika anorganik menawarkan stabilitas kimia dan mekanik yang baik, tetapi sulit dimodifikasi secara kimia dan rentan mengalami keretakan (cracking). Oleh karena itu, dikembangkanlah monolit hibrid organik–anorganik, yang menggabungkan keunggulan keduanya — kekakuan struktur silika anorganik dengan fleksibilitas kimia material organik — menghasilkan material dengan stabilitas tinggi, kemampuan modifikasi permukaan yang luas, serta performa kromatografi yang unggul (Eeltink et al., 2021).

Beberapa tahun terakhir, monolit silika hibrid telah menjadi fokus penelitian karena sifatnya yang serbaguna. (Ma et al., 2017; Wu et al., 2011; Zajickova, 2023) melaporkan bahwa kolom hibrid organik–anorganik menunjukkan stabilitas pH dan mekanik yang baik serta mudah dimodifikasi melalui variasi prekursor organosilan. Selain itu, (Liang et al., 2022) mengembangkan amine-bridged hybrid monoliths yang difungsionalisasi dengan gugus C18 untuk aplikasi spektrometri massa, menunjukkan kombinasi keunggulan stabilitas dan kemudahan fungsionalisasi. (Sun et al., 2023) juga berhasil mensintesis kolom monolit hibrid kiral organik-silika untuk pemisahan senyawa kiral pada sistem High Performance Liquid Chromatography (HPLC), membuktikan fleksibilitas tinggi material hibrid untuk berbagai aplikasi kromatografi. Menurut (Patel et al., 2022b) performa monolitik sangat bergantung pada parameter-parameter seperti rasio molar prekursor dan monomer, jenis serta jumlah porogen, konsentrasi modifikator permukaan, serta kondisi reaksi (suhu dan waktu), sehingga pengendalian yang cermat terhadap faktor-faktor tersebut penting untuk menghasilkan struktur monolit yang ideal.

Salah satu pendekatan yang banyak digunakan dalam sintesis monolit hibrid adalah kombinasi prekursor silika organosilan seperti (3-glycidoxypropyl)trimethoxysilane (GPTMS) dan tetramethoxysilane (TMOS). GPTMS memiliki gugus epoksida (glycidyl) yang reaktif, memungkinkan terjadinya ikatan kovalen dengan molekul organik seperti asam amino melalui reaksi nukleofilik (Xu et al., 2011). Sementara itu, TPMS berperan sebagai prekursor hidrofobik yang menstabilkan struktur jaringan silika dan meningkatkan keterikatan antar unit silanol. Kombinasi keduanya menghasilkan material hibrid dengan jaringan silika yang kokoh, luas permukaan tinggi, serta gugus fungsional aktif yang dapat disesuaikan untuk interaksi polar maupun nonpolar. (Liu et al., 2016) menunjukkan bahwa pendekatan “one-pot sol–gel synthesis” untuk kolom monolit hibrid menghasilkan struktur berpori homogen yang memiliki stabilitas mekanik dan pH baik pada rentang pH 1–11, sehingga cocok untuk aplikasi capillary liquid chromatography (CLC).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini merupakan studi awal mengenai pembuatan dan karakterisasi kolom monolit silika hibrid berbasis TMOS dan GPTMS melalui metode sol-gel, yang dimodifikasi dengan asam amino sebagai monomer organik untuk memperkenalkan gugus fungsional aktif. Karakterisasi dilakukan dengan SEM untuk morfologi, uji penurunan tekanan (pressure drop) untuk stabilitas mekanik, serta uji kinerja kromatografi untuk memisahkan dua analit model, yaitu urasil (polar) dan toluena (nonpolar). Hasil yang diperoleh diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan fasa diam hibrid dengan performa tinggi pada sistem kromatografi cair kapiler.

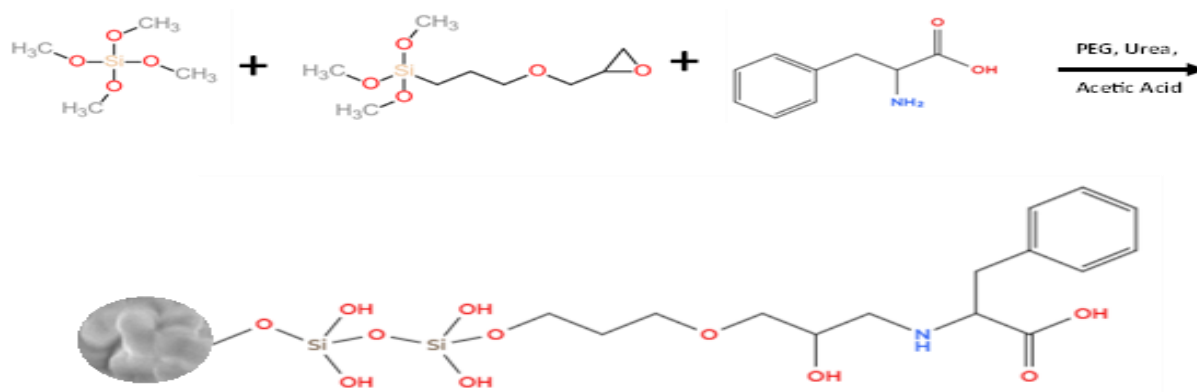
Metode

Preparasi kolom monolit hibrid dilakukan dengan mencampurkan tetrametoksisilan (TMOS) sebagai prekursor utama silika dengan prekursor lainnya yaitu glisidoksipropiltrimetoksisilan (GPTMS) melalui metode sol-gel. Prekursor silika tersebut dicampurkan dengan porogen (PEG MW 10000, urea, dan asam asetat) dengan metode sol-gel selama 1 jam pada suhu 0 °C. Setelah itu, asam aspartat ditambahkan ke dalam campuran dan disonikasi selama beberapa menit. Asam aspartat berperan sebagai monomer organik fungsional yang berperan penting dalam pembentukan struktur dan sifat permukaan kolom silika hibrid monolit. Selain itu, kehadiran gugus hidrofilik pada asam aspartat juga berkontribusi penting pada peningkatan polaritas permukaan kolom. Campuran larutan yang dihasilkan kemudian dimasukkan secara manual ke dalam kapiler silika fusi (fused-silica capillary) yang telah melalui tahap pra-perlakuan (pre-treatment) dengan melewati 1 M HCl, Akuades, dan 1 M NaOH selama 30 menit masing-masingnya. Kemudian, kedua ujung kapiler disegel menggunakan tutup teflon. Kolom tersebut kemudian dipolimerisasi selama 24 jam pada berbagai suhu. Morfologi kolom monolit kapiler yang dihasilkan dievaluasi menggunakan mikroskop elektron pemindai (SEM), dan diujikan untuk pemisahan urasil dan toluene dalam kromatografi cair sistem kapiler.

Hasil dan Pembahasan

Pembuatan Kolom Silika Hibrid Monolit

Pada penelitian ini, kolom silika hibrid monolit disintesis menggunakan proses sol-gel sebelum dimasukkan ke dalam kapiler fused-silica. Kinerja serta morfologi kolom monolit yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor sintesis, antara lain rasio prekursor silika, rasio porogen, serta suhu dan waktu reaksi. Variasi parameter tersebut dapat memengaruhi proses hidrolisis dan kondensasi prekursor silika, yang pada akhirnya menentukan porositas, kekompakan struktur, dan adhesi monolit terhadap dinding kapiler. Dalam proses pembentukan jaringan silika hibrid melalui metode sol-gel, terdapat dua tahapan utama, yaitu hidrolisis alkoksi dan kondensasi silanol menjadi ikatan Si-O-Si. Laju kondensasi sangat dipengaruhi oleh suhu reaksi. Laju kondensasi meningkat secara signifikan ketika suhu ditingkatkan, dan dalam keadaan asam atau basa (Baskaran et al., 2022). Selanjutnya, pengenalan gugus amina pada unit glisidil dilakukan melalui mekanisme ring opening reaction, di mana gugus $-NH_2$ bertindak sebagai nukleofil kuat yang dapat menyerang atom C pada cincin epoksida GPTMS. Asam aspartat berfungsi untuk menghasilkan situs hidrofilik tambahan pada permukaan kolom monolit yang dapat meningkatkan polaritas, dan interaksi permukaan pada sistem Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC). Reaksi pembentukan kolom silika hibrid dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi Pembentukan Kolom Silika Hibrid

Pada penelitian ini, jumlah prekursor silika dan agen porogenik dijaga tetap pada seluruh percobaan, yaitu TMOS (240 mg), GPTMS (60 mg) dengan rasio perbandingan (4:1), PEG (BM 10.000; 54 mg), urea (45 mg), dan asam asetat 0,01 M (50 mg). Perbedaan hanya diberikan pada suhu reaksi, yaitu 40 °C, 50 °C, dan 60 °C, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pembuatan Kolom Silika Hibrid

Kolom	Suhu (°C)	Back Pressure (Mpa)*	k Permeabilitas ($\times 10^{-14} \text{m}^2$) **	Kondisi monolith
A	40	4.1	-	detached
B	50	4.3	1.26	Firmly attached
C	60	4.6	1.18	Firmly attached

*Tekanan sistem diperoleh saat mencuci kolom menggunakan Metanol pada kecepatan 3 μ L/min, dengan panjang kolom 10 cm.

**Permeabilitas dihitung menggunakan Hukum Darcy, dimana F adalah laju alir fasa Gerak, η adalah viskositas fasa gerak, L adalah panjang kolom, r adalah jari-jari kolom, dan ΔP adalah tekanan.

$$K = \frac{F\eta L}{\Delta P \pi r^2}$$

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada suhu 40 °C, monolit tidak mampu melekat dengan baik pada dinding kapiler fused-silica. Setelah proses polimerisasi selesai dan kolom dicuci dengan metanol, monolit terlepas seluruhnya dari dinding kapiler (detached). Fenomena ini disebabkan oleh proses kondensasi yang tidak sempurna akibat energi termal yang rendah, sehingga ikatan siloksan (Si–O–Si) antara jaringan monolit dan permukaan silanol di dinding kapiler tidak terbentuk secara optimal. Selain itu, pada suhu rendah, laju evaporasi pelarut dan porogen juga lebih lambat, menyebabkan fase gel yang terbentuk kurang kuat, sehingga adhesi terhadap dinding

kapiler menjadi lemah. Akibatnya, kolom pada suhu ini tidak dapat digunakan untuk analisis kromatografi lanjut.

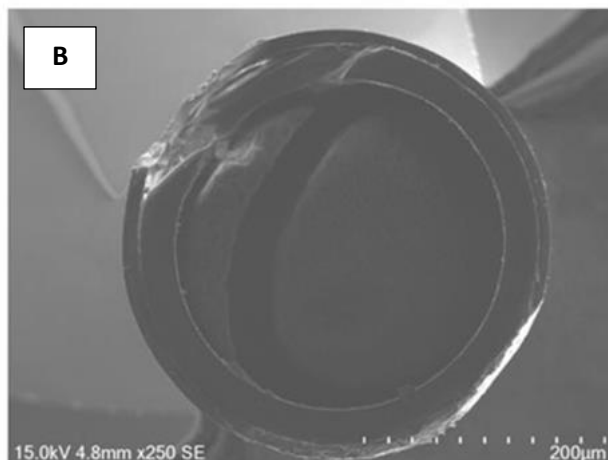
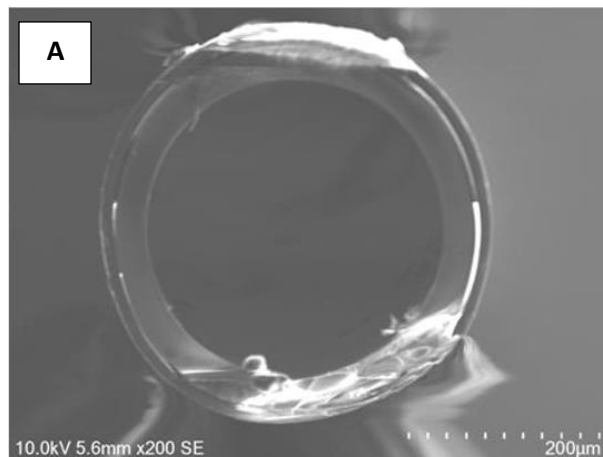
Sebaliknya, pada suhu 50 °C dan 60 °C, monolit berhasil terbentuk dan melekat kuat di sepanjang dinding kapiler. Proses hidrolisis dan kondensasi prekursor silika (TMOS dan GPTMS) berlangsung lebih efektif pada suhu tersebut, menghasilkan struktur monolit berpori yang homogen dan terdistribusi merata di dalam kapiler. Namun, pada beberapa bagian, khususnya di bagian pinggir kolom, diamati adanya retakan halus (*cracking*). Retakan ini kemungkinan disebabkan oleh tegangan internal (*shrinkage stress*) yang timbul selama tahap pematangan gel atau akibat perbedaan laju penyusutan antara inti dan dinding kapiler saat proses pencucian. Meskipun demikian, monolit pada suhu 50 °C dan 60 °C masih menunjukkan struktur berpori kontinu dan stabilitas mekanik yang cukup baik, sehingga dapat digunakan untuk analisis pemisahan lanjutan.

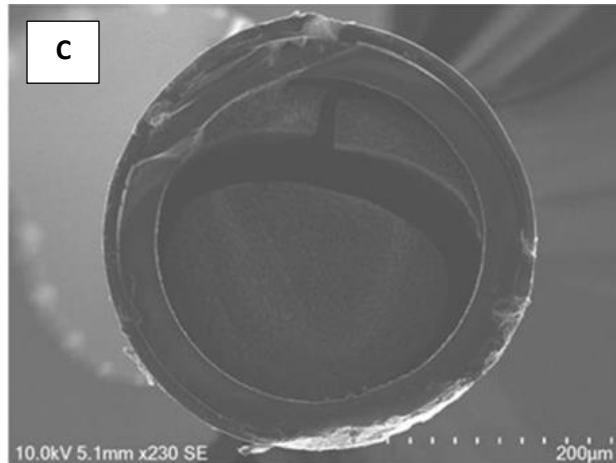
Gambar 1 memperlihatkan foto SEM kolom silika hibrid TMOS/GPTMS yang disintesis pada suhu 50 °C dan 60 °C. Pada suhu 50 °C, morfologi yang diamati menunjukkan struktur skeleton (rangka utama) yang tersusun secara homogen dengan ukuran rata-rata antara 1,4–2 µm. Struktur ini tampak rapat namun masih menunjukkan konektivitas pori yang baik, yang mengindikasikan proses kondensasi dan pembentukan jaringan silika berjalan optimal pada suhu ini. Keterikatan monolit terhadap dinding kapiler juga terlihat kuat, tanpa adanya celah besar di antara monolit dan dinding fused-silica. Hal ini menandakan bahwa pada suhu 50 °C, ikatan siloksan (Si–O–Si) antara permukaan kapiler dan jaringan monolit terbentuk dengan baik, sehingga menghasilkan adhesi yang stabil. Walaupun demikian, pada beberapa bagian tengah kolom masih ditemukan retakan halus (*micro-cracks*) yang kemungkinan timbul akibat penyusutan gel (*shrinkage*) selama proses pengeringan.

Sementara itu, pada suhu 60 °C, struktur monolit yang dihasilkan memiliki rangka (*skeleton*) berukuran sedikit lebih besar, yaitu 1,6–3 µm. Ukuran *skeleton* yang meningkat ini menunjukkan bahwa kenaikan suhu reaksi mempercepat laju kondensasi dan memperbesar domain silika akibat peningkatan kelarutan porogen dan keterlambatan

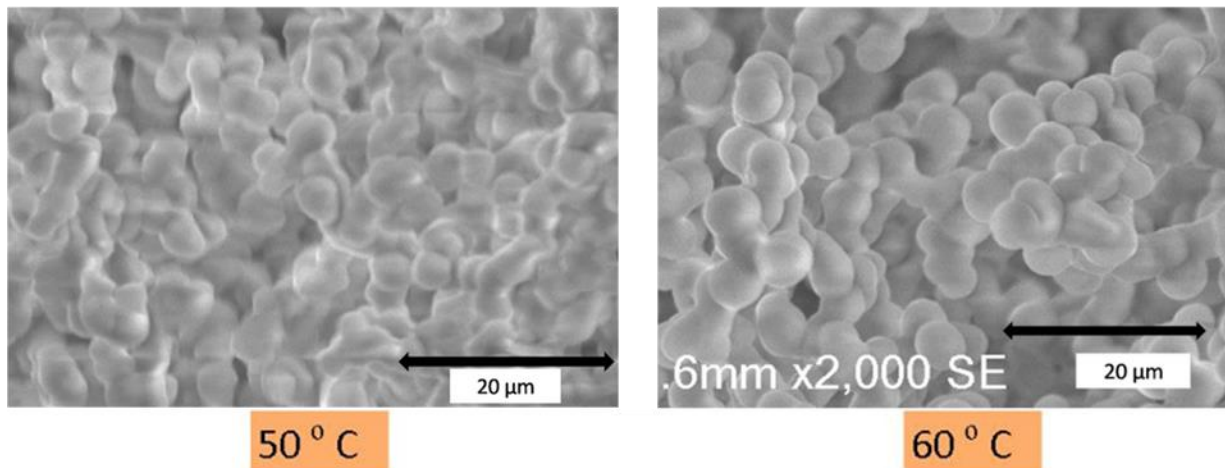
pemisahan fasa (phase separation delay). Akibatnya, pori yang terbentuk cenderung lebih besar, dan struktur menjadi sedikit lebih padat. Meski demikian, morfologi monolit masih memperlihatkan porositas yang kontinu dan terhubung, yang tetap memungkinkan aliran fluida dalam sistem kromatografi. Pada suhu ini juga masih tampak adanya retakan kecil di bagian tengah kolom, yang kemungkinan diakibatkan oleh gradien termal selama proses pencucian.

Jika dibandingkan, monolit pada suhu 50 °C menunjukkan keseimbangan yang lebih baik antara ukuran skeleton, homogenitas pori, dan kekuatan adhesi, sedangkan monolit pada suhu 60 °C menunjukkan struktur yang sedikit lebih besar dan padat, namun berpotensi memiliki penurunan permeabilitas karena berkurangnya volume pori. Hasil ini konsisten dengan pengukuran permeabilitas yang menurun seiring peningkatan suhu reaksi.





Gambar 1. Foto scanning electron microscope kolom silika hibrid pada suhu polimerisasi a. 40°C; b. 50 °C; c. 60 °C

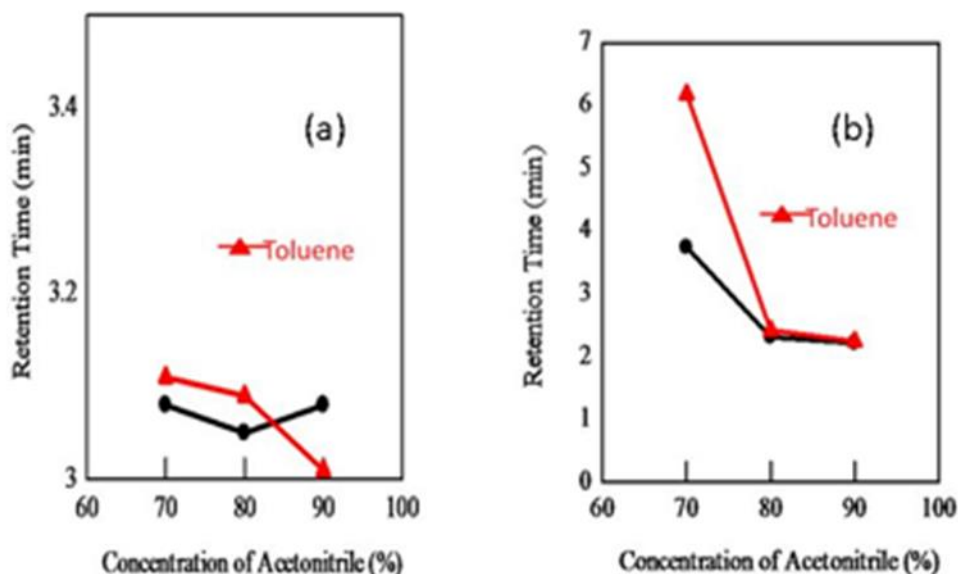


Gambar 2. Foto scanning electron microscope Kolom Silika Hibrid perbesaran 2000X pada suhu 50 °C dan 60 °C

Evaluasi HILIC pada Kolom Silika Hibrid TMOS/GPTMS

Untuk mengetahui kemampuan Kolom Silika Hibrid TMOS/GPTMS dalam pemisahan senyawa polar dan nonpolar, dilakukan uji pemisahan terhadap urasil dan toluene dengan menggunakan berbagai variasi konsentrasi asetonitril sebagai fasa gerak. Gambar 2 menunjukkan hubungan antara waktu retensi (retention time) dari dua analit terhadap konsentrasi asetonitril dalam fasa gerak pada sistem kromatografi cair kapiler menggunakan kolom silika hibrid TMOS/GPTMS. Pada sistem HILIC, fase diam bersifat polar, sedangkan fase gerak mengandung proporsi tinggi pelarut organik

(biasanya asetonitril) dengan sebagian kecil air atau buffer. Pada kadar asetonitril rendah (70%), fase gerak menjadi lebih polar sehingga lapisan air di permukaan silika belum stabil, menyebabkan interaksi urasil dengan fasa diam melemah dan menghasilkan perilaku mirip reversed-phase. Dengan meningkatnya kandungan asetonitril hingga 90%, terbentuk lapisan air yang stabil di permukaan silika, sehingga mekanisme beralih menjadi HILIC, di mana analit polar berpartisipasi ke dalam lapisan air tersebut dan menunjukkan retensi lebih panjang (McCalley, 2017). Mekanisme pemisahan terjadi karena adanya lapisan air tipis di permukaan fasa diam polar, yang berperan sebagai medium interaksi antara analit polar dan fasa diam. Dalam sistem ini, analit polar akan tertahan lebih lama karena berinteraksi kuat dengan lapisan air dan gugus silanol pada permukaan silika, sedangkan analit nonpolar akan terelusi lebih cepat karena interaksinya dengan fasa diam relatif lemah (Ganewatta & El Rassi, 2020).



Gambar 2. Plot Waktu retensi Urasil dan toluene terhadap konsentrasi asetonitril sebagai fasa gerak. Analit 0,1% (w/v)

Dari grafik terlihat bahwa peningkatan konsentrasi asetonitril dalam fase gerak menyebabkan peningkatan waktu retensi urasil dan penurunan waktu retensi toluena. Hal ini menunjukkan bahwa pada kadar asetonitril tinggi (80–90%), fase gerak menjadi kurang polar, sehingga senyawa polar seperti urasil memiliki interaksi lebih kuat dengan fasa diam polar melalui ikatan hidrogen dan gaya elektrostatik. Sebaliknya, toluena yang

bersifat nonpolar tidak memiliki afinitas tinggi terhadap fasa diam, sehingga elusi terjadi lebih cepat.

Sementara itu, pada konsentrasi asetonitril yang lebih rendah (70%), fase gerak menjadi lebih polar sehingga interaksi antara urasil dan permukaan silika berkurang, dan waktu retensinya menurun. Sebaliknya, retensi toluena cenderung sedikit meningkat karena adanya kontribusi mekanisme reversed-phase (RP-like), di mana senyawa nonpolar dapat berinteraksi dengan komponen organik pada permukaan kolom. Fenomena ini menunjukkan adanya transisi mekanisme pemisahan dari reversed-phase menuju HILIC seiring meningkatnya fraksi pelarut organik dalam fase gerak.

Hasil ini menegaskan bahwa kolom silika hibrid TMOS/GPTMS memiliki permukaan polar aktif yang mampu mendukung pembentukan lapisan air yang stabil, serta mampu membedakan analit berdasarkan perbedaan polaritasnya. Dengan demikian, kolom ini berpotensi diaplikasikan untuk pemisahan senyawa polar pada sistem kromatografi cair interaksi hidrofilik (HILIC) secara efisien.

Kesimpulan

Kolom silika hibrid monolit berbasis TMOS dan GPTMS telah berhasil disintesis menggunakan metode sol-gel one-pot untuk aplikasi pada kromatografi cair sistem kapiler. Hasil menunjukkan bahwa suhu reaksi 50 °C menghasilkan monolit dengan struktur berpori homogen, adhesi kuat, dan permeabilitas optimal, sedangkan suhu rendah (40 °C) menghasilkan monolit yang rapuh dan tidak melekat, dan suhu tinggi (60 °C) menyebabkan struktur lebih padat dengan retakan halus. Uji pemisahan dengan analit urasil dan toluena pada komposisi asetonitril 70–90% memperlihatkan perilaku khas HILIC, di mana waktu retensi urasil meningkat dan toluena menurun seiring bertambahnya kadar asetonitril. Dengan demikian, kolom silika hibrid TMOS/GPTMS menunjukkan karakteristik morfologi dan kinerja pemisahan yang baik, serta berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai fasa diam hibrid fungsional untuk pemisahan senyawa polar pada sistem kromatografi cair kapiler.

Daftar Referensi

- Baskaran, K., Ali, M., Gingrich, K., Porter, D. L., Chong, S., Riley, B. J., Peak, C. W., Naleway, S. E., Zharov, I., & Carlson, K. (2022). Sol-gel derived silica: A review of polymer-tailored properties for energy and environmental applications. In *Microporous and Mesoporous Materials* (Vol. 336). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2022.111874>
- Eeltink, S., Meston, D., & Svec, F. (2021). Recent developments and applications of polymer monolithic stationary phases. In *Analytical Science Advances* (Vol. 2, Issues 3–4, pp. 250–260). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/ansa.202100006>
- Ganewatta, N., & El Rassi, Z. (2020). Organic polymer monolithic columns with incorporated bare and cyano-modified fumed silica nanoparticles for use in hydrophilic interaction liquid chromatography. *Journal of Analytical Science and Technology*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s40543-020-00239-1>
- Liang, Y., Wang, C., Liang, Z., Zhang, L., & Zhang, Y. (2022). C18-Functionalized Amine-Bridged Hybrid Monoliths for Mass Spectrometry-Friendly Peptide Separation and Highly Sensitive Proteomic Analysis. *Analytical Chemistry*, 94(16), 6084–6088. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c04405>
- Liu, S., Peng, J., Liu, Z., Liu, Z., Zhang, H., & Wu, R. (2016). One-Pot Approach to Prepare Organo-silica Hybrid Capillary Monolithic Column with Intact Mesoporous Silica Nanoparticle as Building Block. *Scientific Reports*, 6(1), 34718. <https://doi.org/10.1038/srep34718>
- Ma, J., Dai, Q., Li, X., Zhu, X., Ma, T., Qiao, X., Shen, S., & Liu, X. (2017). Dipentaerythritol penta-/hexa-acrylate based-highly cross-linked hybrid monolithic column: Preparation and its applications for ultrahigh efficiency separation of proteins. *Analytica Chimica Acta*, 963, 143–152. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.057>

- McCalley, D. V. (2017). Understanding and manipulating the separation in hydrophilic interaction liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1523, 49–71. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.06.026>
- Patel, N., Gupta, K. R., & Umekar, M. J. (2022a). An Overview of Monolithic Column: Types, Parameters and Applications. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 12(4-S), 223–231. <https://doi.org/10.22270/jddt.v12i4-S.5521>
- Patel, N., Gupta, K. R., & Umekar, M. J. (2022b). An Overview of Monolithic Column: Types, Parameters and Applications. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 12(4-S), 223–231. <https://doi.org/10.22270/jddt.v12i4-s.5521>
- Sharma, G., Tara, A., & Sharma, V. D. (2017). Advances in monolithic silica columns for high-performance liquid chromatography. *Journal of Analytical Science and Technology*, 8(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s40543-017-0125-x>
- Sun, Y.-N., Shi, L., Shi, M.-L., Yu, L.-Q., Yan, H.-Y., & Lv, Y.-K. (2023). Chiral organic-silica hybrid monolithic HPLC column with dynamic grafting BSA for the enantiomeric separation. *Microchemical Journal*, 193, 109093. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.109093>
- Wu, M., Wu, R., Zhang, Z., & Zou, H. (2011). Preparation and Application of Organic—Silica Hybrid Monolithic Capillary Columns. *ChemInform*, 42. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:196952812>
- Xu, H., Xu, Z., Yang, L., & Wang, Q. (2011). “One-pot” preparation of basic amino acid—silica hybrid monolithic column for capillary electrochromatography. *Journal of Separation Science*, 34(16–17), 2314–2322. <https://doi.org/10.1002/jssc.201100177>
- Zajickova, Z. (2023). Review of recent advances in development and applications of organic-silica hybrid monoliths. *Journal of Separation Science*, 46(18). <https://doi.org/10.1002/jssc.202300396>

