

ОПТИКА И СПЕКТРОСКОПИЯ. ЛАЗЕРНАЯ ФИЗИКА

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2025. Т. 25, вып. 4. С. 425–437
Izvestiya of Saratov University. Physics, 2025, vol. 25, iss. 4. P. 425–437
<https://fizika.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2025-25-4-425-437>, EDN: LXEQFE

Научная статья
УДК 544.18:577.32

Водородная связь в моногидратах триглицеридов насыщенных жирных кислот: молекулярная динамика и квантовомеханическое моделирование

К. В. Березин^{1✉}, Е. Ю. Степанович², К. Н. Дворецкий³, Е. М. Антонова⁴, А. М. Лихтер²,
И. Ю. Янина^{1,5}

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева, Россия, 414056, г. Астрахань, ул. Татищева, д. 20а

³Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

⁴Астраханский государственный медицинский университет, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121

⁵Национальный исследовательский Томский государственный университет, Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, д. 36

Березин Кирилл Валентинович, доктор физико-математических наук, профессор кафедры оптики и биофотоники, berezinkv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0940-0388>, AuthorID: 142789

Степанович Екатерина Юрьевна, кандидат физико-математических наук, заведующий кафедрой технологии материалов и промышленной инженерии, teshn712@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6656-8278>, AuthorID: 588683

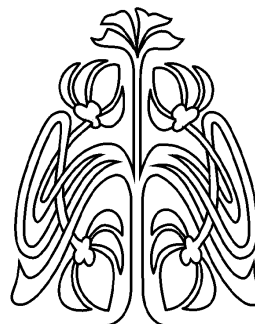
Дворецкий Константин Николаевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры биофизики и цифровых технологий, dcn@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8551-4902>, AuthorID: 308904

Антонова Екатерина Михайловна, ассистент кафедры физики, прикладной информатики и цифровой медицины, kaf_fpi@astgmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6084-1632>, AuthorID: 1161849

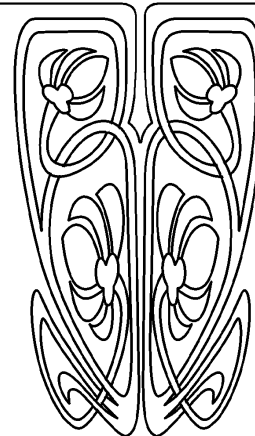
Лихтер Анатолий Михайлович, доктор технических наук, профессор кафедры физики, likhter@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9193-7998>, AuthorID: 120964

Янина Ирина Юрьевна, кандидат физико-математических наук, ¹доцент кафедры оптики и биофотоники, ⁵старший научный сотрудник, irina-yanina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6814-556X>, AuthorID: 182063

Аннотация. В данной работе проведено комплексное исследование водородных связей в двух типах моногидратов триглицеридов насыщенных жирных кислот с использованием методов классической молекулярной динамики и теории функционала плотности. Для анализа были рассмотрены триглицериды с длиной цепей от триацетина до тристеарина с количеством метиленовых групп от 0 до 16 в каждой цепи. Установлено, что карбонильная группа сложного эфира центральной углеводородной цепи являются основным центром образования водородных связей. Моногидраты с участием центральной цепи обладают большей стабильностью, чем с участием боковых цепей. Энергия ассоциации для моногидратов первого типа достигает насыщения при увеличении длины цепи, начиная с триаприлина. Обнаружена линейная зависимость термодинамического параметра $T\Delta S$ и константы равновесия K_d от длины цепи для моногидратов первого типа, что связано с потерей конформационной энтропии при гидратации.



**НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ**





Ключевые слова: триглицериды, водородные связи, молекулярная динамика, теория функционала плотности, гидратация, термодинамика

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-44-00082, <https://rscf.ru/project/24-44-00082/>).

Для цитирования: Березин К. В., Степанович Е. Ю., Дворецкий К. Н., Антонова Е. М., Лихтер А. М., Янина И. Ю. Водородная связь в моногидратах триглицеридов насыщенных жирных кислот: молекулярная динамика и квантовомеханическое моделирование // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2025. Т. 25, вып. 4. С. 425–437. <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2025-25-4-425-437>, EDN: LXEQFE

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Hydrogen bonding in saturated acids triglyceride monohydrates: MD and DFT modeling

K. V. Berezin¹✉, E. Yu. Stepanovich², K. N. Dvoretzky³, E. M. Antonova⁴, A. M. Likhter², I. Yu. Yanina^{1,5}

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Astrakhan State University, 20a Tatischeva St., Astrakhan 414056, Russia

³V. I Razumovsky Saratov State Medical University, 112 B. Kazachya St., Saratov 410012, Russia

⁴Astrakhan State Medical University, 121 Bakinskaya St., Astrakhan 414000, Russia

⁵National Research Tomsk State University, 36 Lenina Av., Tomsk 634050, Russia

Kirill V. Berezin, berezinkv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0940-0388>, AuthorID: 142789

Ekaterina Yu. Stepanovich, teshn712@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6656-8278>, AuthorID: 588683

Konstantin N. Dvoretzky, dcn@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8551-4902>, AuthorID: 308904

Ekaterina M. Antonova, kaf_fpi@astgmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3379-5092>, AuthorID: 1161849

Anatoly M. Likhter, likhter@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9193-7998>, AuthorID: 120964

Irina Yu. Yanina, irina-yanina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6814-556X>, AuthorID: 182063

Abstract. Background and Objectives: Triglycerides, as the primary components of fats and oils, play a crucial role in various scientific and industrial fields, including food production, energy, and pharmaceuticals. Their interaction with water molecules is particularly significant, yet many aspects of these interactions remain poorly understood. This study aims to investigate hydrogen bonding in monohydrates of saturated fatty acid triglycerides using molecular dynamics (MD) and density functional theory (DFT) simulations. The objectives include determining the thermodynamic parameters of association, analyzing the influence of hydrocarbon chain length on hydration, and identifying the most stable hydration configurations. **Materials and Methods:** The study employed classical molecular dynamics (GROMACS) with the AMBER-03 force field and DFT calculations (B3LYP/6-31+G(d) and wB97XD/6-311+G(d,p)) to model hydrogen bonds in monohydrates of triglycerides ranging from triacetin to tristearin (chain lengths of 0 to 16 methylene groups). The MD simulations involved a 4×4×4 nm periodic boundary cell with a triglyceride molecule surrounded by water, run for 500 ps at 300 K and 1 bar. Hydrogen bonds were identified using geometric criteria (distance ≤ 3.5 Å, angle ≤ 30°). DFT calculations optimized molecular structures and calculated thermodynamic parameters, including association energies, enthalpies, and equilibrium constants. **Results:** The results have revealed that carbonyl groups of the central ester chain are the primary sites for hydrogen bond formation. Monohydrates involving the central chain (Type 1) have exhibited a greater stability than those involving side chains (Type 2). The association energy for Type 1 monohydrates has saturated starting from tricaprylin (chain length of 6). A linear relationship has been observed between the thermodynamic parameter $\Delta\Delta S$ and the equilibrium constant K_a for Type 1 monohydrates, attributed to the loss of conformational entropy upon hydration. Non-classical hydrogen bonds (C-H...O) have also contributed to the stability of monohydrates, influencing their spatial structure. The study has found that hydration of longer chains requires higher energy to overcome entropy losses. **Conclusion:** The study has demonstrated that the central carbonyl group of triglycerides is the primary hydration site, with Type 1 monohydrates being more stable than Type 2. The association energy and enthalpy reach saturation for chains longer than tricaprylin, while linear dependencies of $\Delta\Delta S$ and K_a on chain length highlight the role of conformational entropy in hydration. These findings enhance the understanding of triglyceride-water interactions, providing insights relevant to food science, pharmaceuticals, and the development of lipid-based delivery systems. The combined use of MD and DFT has proved effective for analyzing these complex molecular interactions.

Keywords: triglycerides, hydrogen bonds, molecular dynamics, density functional theory, hydration, thermodynamics

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-44-00082, <https://rscf.ru/project/24-44-00082/>).

For citation: Berezin K. V., Stepanovich E. Yu., Dvoretzky K. N., Antonova E. M., Likhter A. M., Yanina I. Yu. Hydrogen bonding in saturated acids triglyceride monohydrates: MD and DFT modeling. *Izvestiya of Saratov University. Physics*, 2025, vol. 25, iss. 4, pp. 425–437 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2025-25-4-425-437>, EDN: LXEQFE

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)



Введение

Триглицериды, являющиеся основными компонентами жиров и масел, представляют собой сложные эфиры, состоящие из глицерина и трёх цепей жирных кислот. Их взаимодействие с молекулами воды играет ключевую роль в различных процессах, изучаемых в научных областях, и реализующихся в производстве, включая пищевую промышленность, энергетику, и фармацевтику [1–3].

Природная гидрофобность триглицеридов приводит к их низкой растворимости в воде. Однако на границах раздела фаз, например, в эмульсиях, молекулы триглицеридов могут ориентироваться так, чтобы минимизировать межфазную энергию [4–6]. Исследования с использованием молекулярного моделирования показали, что на границе с водой триглицериды располагаются таким образом, что их глицериновый «скелет» ориентирован в сторону водной фазы, что способствует взаимодействию с молекулами воды. Такая ориентация позволяет воде проникать в слой триглицеридов, взаимодействуя с атомами кислорода в сложноэфирных группах, создавая пути для диффузии воды [3].

Триглицериды играют ключевую роль в стабилизации водно-органических взаимодействий. Исследования показывают, что триглицериды могут временно покрывать и стабилизировать крупные водно-органические взаимодействия, образующиеся в процессе эмульгирования. Эта стабилизация критически важна для формирования и поддержания эмульсий в различных областях применения [7]. Кроме того, наличие воды в матрице триглицеридов может влиять на растворимость и распределение малых молекул. Проводимые исследования направлены на выявление влияния изменения концентрации триглицеридных эфиров и поглощения воды на растворимость и распределение малых молекул в липидных носителях. Это даёт важные сведения для разработки систем доставки лекарств на основе липидов [8].

При изучении методами полноатомной молекулярной динамики проницаемости аромата в сложных молочных продуктах, таких как сливочное масло, выявлена сложная организация структура границы раздела жира с водой [9].

Экспериментальные исследования с помощью спектроскопии с временным разрешением (2D-IR) демонстрируют, что вода может стабилизироваться внутри триглицеридного масла в виде отдельных молекул или небольших кластеров,

образуя сильные одинарные водородные связи (ВС) с одной карбонильной группой триглицерида и более слабые двойные водородные связи, предположительно формируя «мостики» между карбонильными группами соседних молекул. Отмечается, что до конца не ясна молекулярная картина того, как молекулы воды организуются в масляной фазе [10]. Несмотря на значительный прогресс в понимании этих взаимодействий, многие аспекты остаются недостаточно изученными. В частности, требуют дальнейшего изучения механизмы формирования гидратных оболочек вокруг триглицеридов, влияние степени ненасыщенности жирных кислот и длины углеводородной цепи на гидратацию. Современные методы молекулярного моделирования, такие как молекулярная динамика и квантовая химия, позволяют изучать эти процессы на молекулярном уровне.

Целями данной работы ставились выявление структуры молекулярных моделей наиболее вероятных моногидратов триглицеридов насыщенных жирных кислот с различной длиной углеводородной цепи, определение термодинамических параметров ассоциации, установление их зависимости от расположения и длины углеводородной цепи. Теоретическим инструментом исследования выбрана совокупность метода классической молекулярной динамики и теории функционала плотности.

Выбор исходной пространственной структуры триглицеридов

Известно, что триглицериды жирных кислот обладают подвижной молекулярной структурой, что приводит к образованию множества конформеров, энергетические различия между которыми составляют величину порядка RT (R – универсальная газовая постоянная, T – абсолютная температура). Так, например, самый маленький триглицерид уксусной кислоты – триацетин – имеет 109 конформеров, из которых 30 имеют встречаемость более одного процента [11]. Таким образом, жир представляет собой равновесную конфигурацию большого числа близких по энергии конформеров триглицеридов. Поиск нижней по энергии конфигурации триглицеридов представляет собой отдельную задачу. В связи с этим в работе использовались молекулярные модели триглицеридов, находящихся в одном из возможных локальных минимумов, которые ранее использовались для описания спектральных свойств растительных масел [12–14].



Такая модельная конфигурация представляет собой «трезубец», когда все углеводородные цепи находятся в одной полуплоскости, а две карбонильные группы сложного эфира – в другой. Надо заметить, что сходная конфигурация может, в частности, реализовываться вблизи границы раздела жир – вода, когда карбонильные группы разворачиваются в сторону, чтобы минимизировать энергию взаимодействия. Исходная молекулярная модель триглицерида каприновой кислоты показана на рис. 1.

Для анализа были построены молекулярные модели восьми триглицеридов жирных кислот от триацетина до триглицерида стеариновой кислоты (тристеарина).

Моделирование методами классической молекулярной динамики

Моделирование межмолекулярного взаимодействия молекул триглицеридов жирных кислот с водой проводилось с помощью пакета классической молекулярной динамики (МД) GROMACS [15] с силовым полем AMBER-03 [16]. Модельная сцена представляла трехмерную ячейку (с размерами $4 \times 4 \times 4$ нм) с периодическими границами. Молекула триглицерида жирной кислоты помещалась случайным образом в пределах ячейки перед началом каждого моделирования. Остальное пространство заполнялось водным раствором. Начальные скорости атомов имели максвелловское распределение и задавались с помощью генератора случайных чисел па-

кета GROMACS. При проведении моделирования использовались термостат и баростат Берендсена [17], обеспечивающие сходимость термодинамических параметров системы к следующим значениям: $T_0 = 300$ К и $P_0 = 1$ бар. Временной шаг моделирования был равен 0.0001 пс, а полное время составило 5 нс. Состояние системы записывалось каждые 0.1 пс. Записанные траектории движения молекул обрабатывались средствами пакета GROMACS и с помощью программы VMD (Visual Molecular Dynamics) [18]. Для каждой исследуемой системы моделирование проводилось 20 раз с последующим усреднением результатов.

Далее с помощью программы VMD оценивалось среднее число водородных связей, образовавшихся между молекулами жирных кислот и молекулами воды в единицу времени. Полагалось, что ВС образуется, если выполняются следующие геометрические критерии: $R \leq 3.5$ Å [19] и $\phi \leq 30^\circ$, где R – расстояние между атомом донора А, ковалентно связанным с атомом водорода Н, и атомом акцептора В другой молекулы или функциональной группы той же молекулы, а ϕ – угол, образованный связями АН и АВ. Результаты статистической обработки образовавшихся в ходе межмолекулярного взаимодействия ВС для четырех триглицеридов жирных кислот представлены на рис. 2. По оси ординат отложены значения процента от заселенности – процента времени нахождения в водородосвязанном состоянии от общего времени наблюдения.

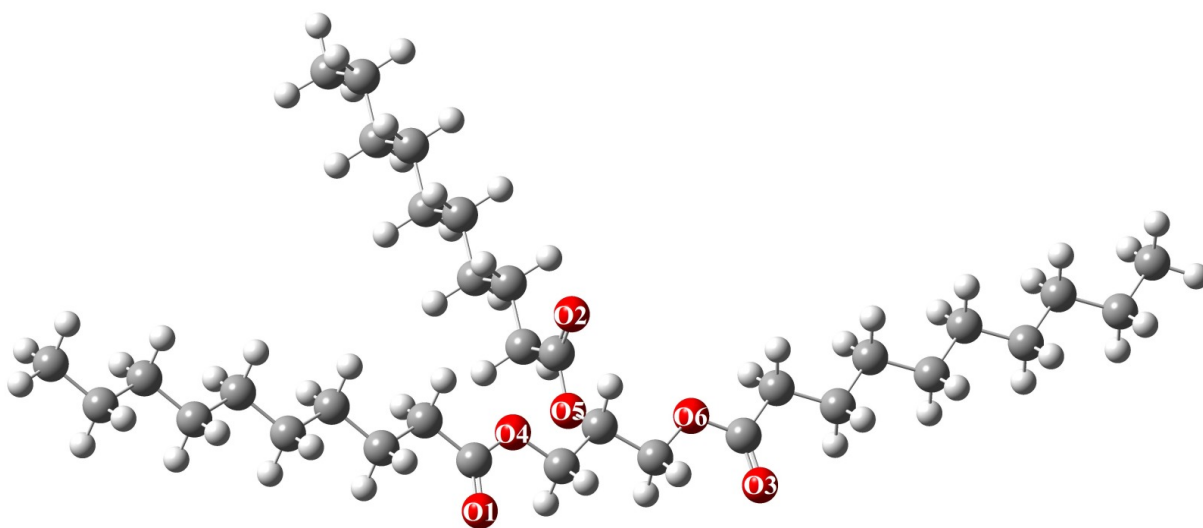


Рис. 1. Молекулярная модель триглицерида каприновой кислоты. Буквами с цифрами отмечены атомы кислорода (цвет онлайн)

Fig. 1. Molecular model of capric acid triglyceride. Oxygen atoms are marked with letters and numbers (color online)

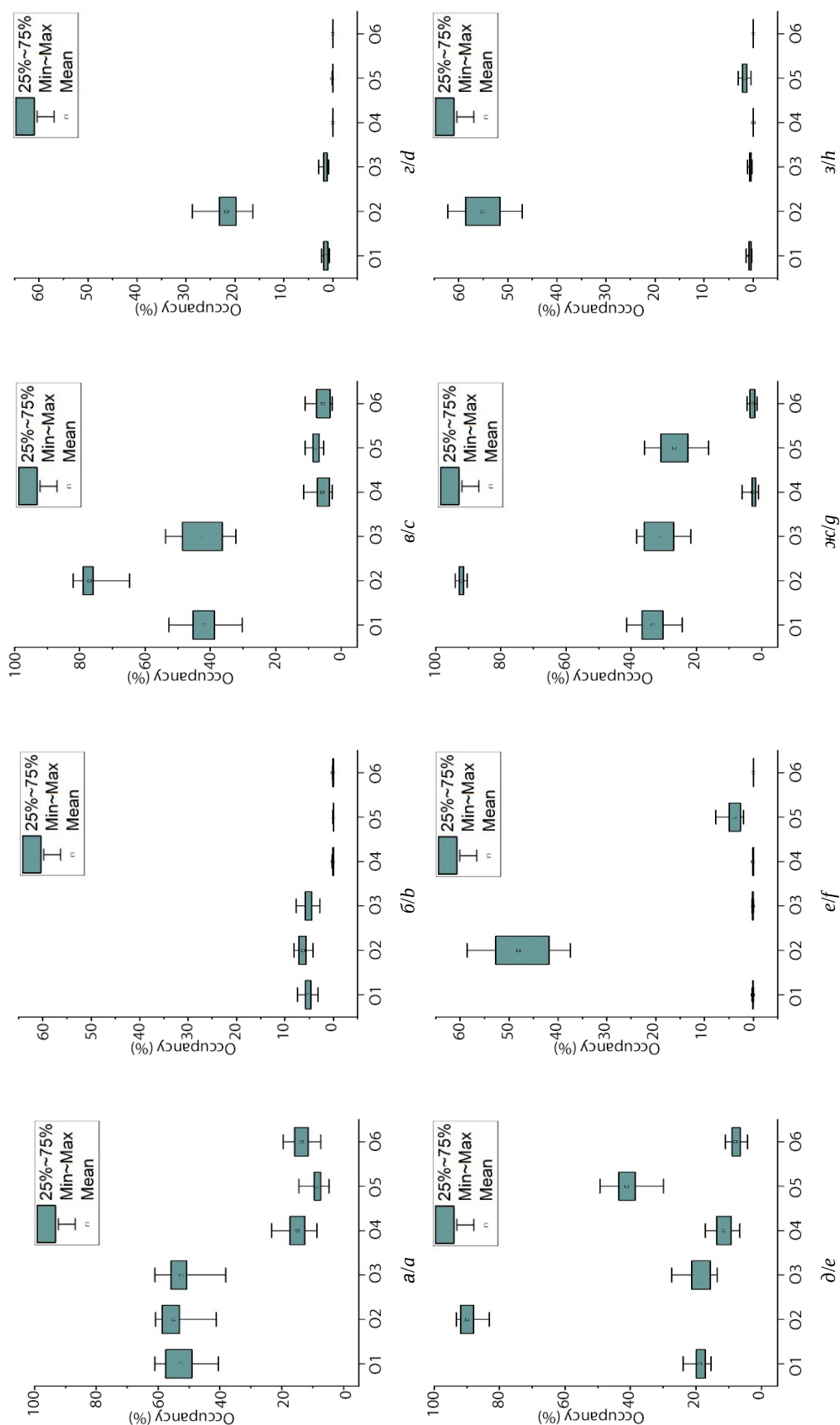


Рис. 2. Заселенности образования ВС между молекулами воды и различными атомами кислорода ряда триглицеридов жирных кислот: триацетин (а), трибутирин (б), трипальмитин (в) и трипальмитин (г) для атомов кислорода молекул триглицеридов (нумерация приведена на рис. 1). Аналогичные заселенности образования только множественных ВС для соответствующих жирных кислот представлены на рис. б, в, г. Легенда показывает: интерквартильный размах, диапазон от минимального до максимального значения, среднее значение (цвет онлайн)

Fig. 2. Populations of hydrogen bond formation between water molecules and various oxygen atoms of a series of fatty acid triglycerides: triacetin (a), tributyrin (b), tripalmitin (c), and tripalmitin (g) for the oxygen atoms of the triglyceride molecules (numbering is given in Fig. 1). Similar populations of the formation of only multiple hydrogen bonds for the corresponding fatty acids are shown in (b), (d), (f), and (h). Occupancy percentage is the time spent in a hydrogen-bonded state (as a percentage of the total observation time). The legend shows: interquartile range, the range from the minimum to the maximum value, and the mean value (color online)



Дополнительно рассмотрена заселенность образования ВС для ансамбля из 8 молекул трибутирина (рис. 3).

Квантово-механическое моделирование

Все квантово-химические расчеты молекулярных структур проводились с помощью программы Gaussian [20]. При выборе расчетного метода для анализа моделей межмолекулярных комплексов исходили из того, что, с одной стороны, должны получить хорошую оценку энтальпии образования комплексов, а с другой стороны – иметь адекватные времена расчета. В качестве тестовых объектов мы выбрали димер муравьиной кислоты и димер молекулы воды, для которых известны экспериментальные значения энергии ассоциации [21–24]. Часть рассматриваемых в работе молекулярных систем имеют относительно большой размер, поэтому при выборе метода

мы ограничились методами теории функционала плотности, а в качестве базисных наборов для расчета геометрических параметров и силового поля тестировали только небольшие стандартные базисы 6-31+G(d), 6-31G++(d), а для уточнения энергии в гибридных методах применяли расширенный базисный набор 6-311+G(d,p). Для теста были выбраны два функционала. Это наиболее часто используемый для расчета больших молекулярных систем функционал B3LYP [25, 26], а также функционал ω B97XD [27], который разработан специально для учета нековалентных взаимодействий. Для повышения точности и более лучшей сходимости при всех расчетах, включая тестовые, были применены более жесткие критерии оптимизации геометрии (opt=tight), самосогласованного поля (SCF=Tight) и интегральной сетки (Int=UltraFine). Энтальпию ассоциации в данном тесте мы рассчитывали тремя спосо-

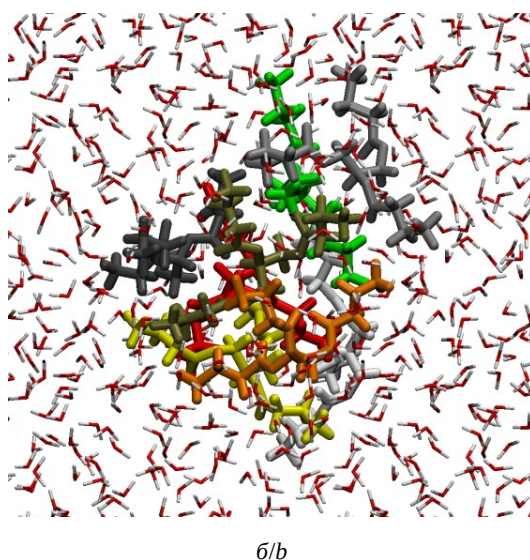
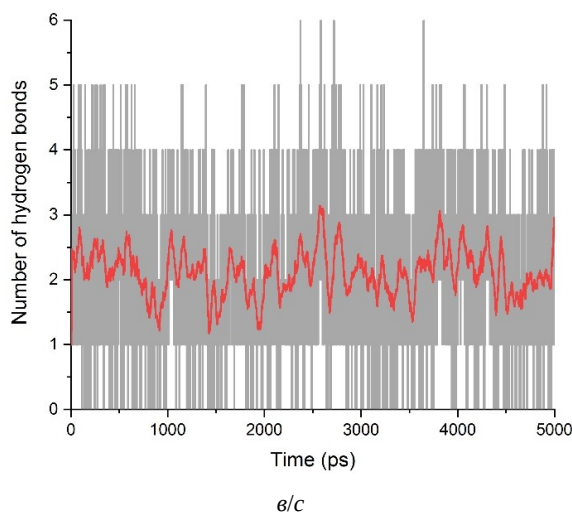
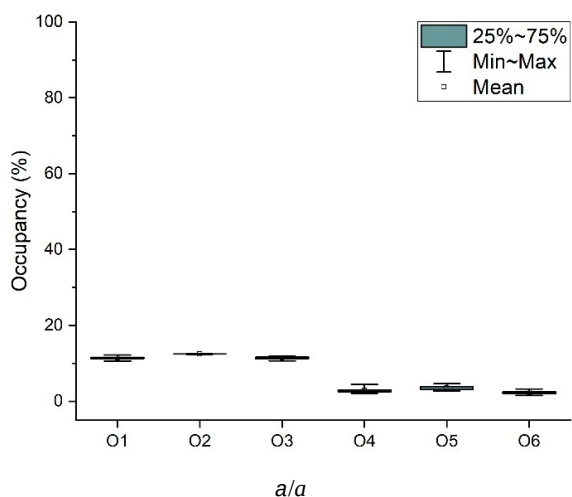


Рис. 3. Заселенность образования ВС между молекулами воды и различными атомами кислорода ансамбля из 8 молекул трибутирина (а). Пример конфигурации ансамбля молекул трибутириновой кислоты в окружении молекул воды (б). Зависимость числа образовавшихся водородных связей между молекулами воды и атомами кислорода молекулы трибутирина от времени (в). Красной (ломаной) линией показан результат аппроксимации скользящей средней с шириной окна $n = 50$ (цвет онлайн)

Fig. 3. Occupancy of HB formation between water molecules and various oxygen atoms of a tributyrin ensemble of 8 molecules (a). Example configuration of a tributyrin molecule ensemble surrounded by water molecules (b). The dependence of the number of formed hydrogen bonds between water molecules and oxygen atoms of the tributyrin molecule on time (c). The red line shows the result of a moving average approximation with a window width of $n = 50$ (color online)



бами. В первом случае рассчитывали полную электронную энергию и волновые числа оптимизированных структур димера и мономера, а также суперпозиционную базисную ошибку (*BSSE*) [28] для данного базиса. Энтальпия рассчитывалась по формуле

$$\Delta H_T^0 = \Delta E + \Delta ZPE + BSSE + \Delta H_{term}, \quad (1)$$

где ΔE – разница полных электронных энергии димера и мономеров, ΔZPE – разница нулевых колебательных энергий, *BSSE* суперпозиционная ошибка, ΔH_{term} – термодинамическая поправка, которая рассчитывалась по формулам [29].

Во втором случае использовали гибридную схему расчета, когда геометрические параметры и волновые числа рассчитывались с помощью метода B3LYP/6-31+G(d), а электронная энергия уточнялась с помощью однократной процедуры самосогласованного поля (СПП) с использованием метода wB97XD/6-311+G(d,p). Такой гибридный подход – широко распространенная и теоретически обоснованная стратегия в квантовой химии, направленная на достижение баланса между точностью и вычислительной эффективностью. Функционал B3LYP обеспечивает надежные результаты для большинства молекулярных систем, включая водородные связи. Этот функционал является быстрым и эффективным для трудоемких процедур, особенно для комплексов среднего и большого размера. Функционал wB97XD является ключевой частью гибридного метода. Данный функционал является представителем нового поколения DFT-методов с улучшенным описанием межмолекулярных взаимодействий. Он корректно описывает как короткодействующие, так и далекодействующие электронные взаимодействия. Наиболее важным преимуществом функционала wB97XD является введенная эмпирическая поправка на дисперсионные силы. Дисперсионные взаимодействия играют значительную роль в энергии стабилизации комплексов с водородной связью и других не ковалентных комплексов. Классические функционалы, такие как B3LYP, не могут адекватно описать эти силы. Поэтому применение wB97XD с дисперсионной поправкой обеспечивает гораздо более точную энергию ассоциации. Использование расширенного базиса 6-311+G(d,p) для одноточечного расчета энергии позволяет точнее вычислить значение энергии, так как он обеспечивает более детальное описание электронной плотности. Для расчета энергии,

особенно для тонких эффектов межмолекулярного взаимодействия, больший базис предпочтителен. Для этого базиса рассчитывалась и величина *BSSE*.

Энтальпия рассчитывалась так же по формуле (1). В третьем случае оценка энтальпии проводилась с помощью эмпирической формулы (2), которая учитывает изменение частоты валентного колебания при образовании водородной связи [30].

$$-\Delta H = 0.3\sqrt{\Delta\omega - 40}, \quad (2)$$

где $\Delta\omega$ – изменение волнового числа валентного колебания (в нашем случае O–H).

Молекулярные модели димеров оптимизированные методом B3LYP/6-31+G(d) показана на рис. 4.

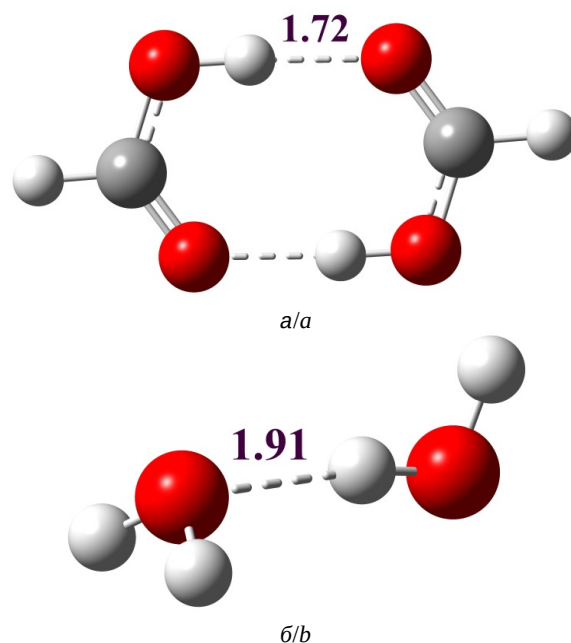


Рис. 4. Молекулярные модели димера муравьиной кислоты (а) и димера воды (б), оптимизированные методом B3LYP/6-31+G(d). Пунктирными линиями показаны водородные связи. Цифрами на рисунке показаны длины водородных связей в ангстремах (цвет онлайн)

Fig. 4. Molecular models of formic acid dimer (a) and water dimer (b), optimized by the B3LYP/6-31+G(d) method. Hydrogen bonds are shown by dotted lines. The numbers in the figure indicate the lengths of hydrogen bonds in angstrom (color online)

Димер муравьиной кислоты получается путем образования двух симметричных водородных связей между гидроксильными и карбонильными группами и принадлежит к группе симметрии C_{2h} . Димер молекулы воды принадлежит к группе симметрии C_s .



Результаты тестовых расчетов

Результаты проведенного тестового расчета энтальпии ассоциации представлены в табл. 1.

Анализ данных, приведенных в табл. 1, показывает, что методы, основанные на гибридном функционале B3LYP с базисными функциями 6-31+G(d) и 6-31++G(d), дают высокие средние процентные ошибки, особенно для энтальпии при ОК (около 12–12.5%), и общие средние ошибки более 10%. Методы, основанные на функционале wB97XD, значительно точнее и обеспечивают лучший результат. Средние процентные ошибки находятся в районе 1–1.4%. Гибридный метод B3LYP/6-31+G(d)/wB97XD/6-311+G(d,p) тоже дает хороший результат с общей средней ошибкой около 2.4%. Применение эмпирической формулы (2) связано с самыми высокими средними процентными ошибками для температурной энтальпии (от 23% до 26%), что свидетельствует о ее неспособности относительно точно предска-

зывать энтальпию ассоциации для данных систем по сравнению с квантово-химическими расчетами. Следует заметить, что использование базисных наборов для расчета комплексных систем без использования диффузных функций категорически нежелательно, несмотря на удовлетворительные значения энтальпии, которые получаются за счет компенсации завышенной энергии ассоциации и большой BSSE, а также значительную (в 3 раза) экономию время расчета. Это сказывается, например, на пространственной геометрии димера воды: так, метод B3LYP/6-31G(d) сильно занижает угол (на 18 градусов относительно метода B3LYP/6-31+G(d)) между осью соединяющие атомы кислорода и плоскостью молекулы воды, которая является акцептором протона, а также не находит минимум энергии, что подтверждается отрицательным значением одного либрационного колебания димера. Замена функционала B3LYP на wB97XD увеличивает общее время расчета

Таблица 1 / Table 1

Разницы полных энергий ΔE , термодинамические параметры (энтальпия ΔH для разных температур), ΔZPE и суперпозиционные ошибки BSSE в ед. (кДж/моль) образования димеров муравьиной кислоты и воды, рассчитанные разными методами

Differences in total energies, thermodynamic parameters and superposition errors in units (kJ/mol) of the formation of formic acid and water dimers, calculated by different methods

Димер муравьиной кислоты / Formic acid dimer						
Использованный метод / The method used	ΔE	ΔZPE	BSSE	ΔH_0^0	ΔH_{296K}^0	ΔH Формула (2)
B3LYP/6-31+G(d)	-66.3	8.3	5.3	-52.6	-54.1	-48.9
B3LYP/6-31++G(d)	-66.4	8.5	5.1	-52.8	-54.3	-49.0
B3LYP/6-31+G(d)/wB97XD/6-311+G(d,p)	-71.4	8.3	3.2	-59.9	-61.4	–
wB97XD/6-31+G(d)	-72.9	8.3	5.4	-59.2	-60.7	-48.8
wB97XD/6-31G++(d)	-72.9	8.5	5.2	-59.3	-60.8	-51.0
Эксперимент / Experiment [12]	–	–	–	-59.5 ± 0.5	-60.3 ± 0.7	–
Димер молекулы воды / Dimer of water molecule						
Использованный метод / The method used	ΔE	ΔZPE	BSSE	ΔH_0^0	$\Delta H_{218.15K}^0$	ΔH (1)
B3LYP/6-31+G(d)	-27.0	10.5	4.8	-11.6	-14.4	-10.5
B3LYP/6-31++G(d)	-27.0	10.7	5.0	-11.4	-14.2	-10.2
B3LYP/6-31+G(d)/wB97XD/6-311+G(d,p)	-26.4	10.5	3.4	-12.5	-15.2	–
wB97XD/6-31+G(d)	-28.2	10.5	4.7	-13.1	-15.8	-11.0
wB97XD/6-31G++(d)	-28.7	10.7	4.8	-13.2	-16.1	-10.6
Эксперимент и термодинамические таблицы (ATcT) / Experiment and Thermodynamic Tables (ATcT)	–	–	–	13.22 ± 0.12^1 [22] 13.220 ± 0.096^2 [24]	13.56 ± 3.97^3 [23] 15.454 ± 0.074^2 [24]	–

Примечание. ¹Переведено оригинальное значение в единицы кДж/моль ($1105 \pm 10 \text{ см}^{-1}$).

²Значения получены с помощью активных термохимических таблиц (ATcT).

³Переведено оригинальное значение в единицы кДж/моль ($3.24 \pm 0.95 \text{ ккал/моль}$).

Note. ¹The original value was converted to kJ/mol units ($1105 \pm 10 \text{ см}^{-1}$).

²The values were obtained using active thermochemical tables (ATcT).

³The original value was converted to kJ/mol units ($3.24 \pm 0.95 \text{ kcal/mol}$).



приблизительно в 1.5 раза. В гибридном методе добавление однократной СПП процедуры увеличивает время расчета незначительно, всего на шесть процентов. Исходя из этого в качестве оптимального метода оценки энтальпии данных комплексных систем был выбран гибридный метод.

Результаты и их обсуждение

Результаты молекулярной динамики показывают, что самыми доступными для образования ВС являются карбонильные группы сложного эфира, при этом влияет разное строение центральной и одинаковых двух боковых углеводородных цепей. Заселенность образования ВС с центральной цепью гораздо выше чем с боковыми. При этом заселенность в отличие от боковых растет с увеличением длины цепи. Похожая ситуация наблюдается для атома кислорода О5 центральной цепи, здесь речь идет уже о относительном росте заселенности по сравнению с боковыми

цепями в зависимости от длины цепи. Для трикаприлина заселенность О5 стала даже выше чем вероятность образования с боковыми карбоновыми группами. Но при переходе к трипальмитину относительная заселенность опять стала ниже, оставаясь сравнимой по величине. Такие перепады заселенностей возможно связаны с изменением конформационных возможностей цепей при их росте. В случае с ансамблем из восьми молекул трибутирина помещенных в воду, как и ожидалось, заселенность образования водородных связей заметно снизилась за счет образования гидрофобных агрегатов. Также выровнялась заселенность центральной и боковых цепей. При этом общие тенденции заселенности сохранились. Исходя из этого, для дальнейшего анализа были построены две наиболее вероятные модели моногидратов первого типа (Тип 1) и второго типа (Тип 2) где акцептором протона выступают кислороды О2 и О3 центральной и боковой цепи соответственно. Структура моногидратов триаце-

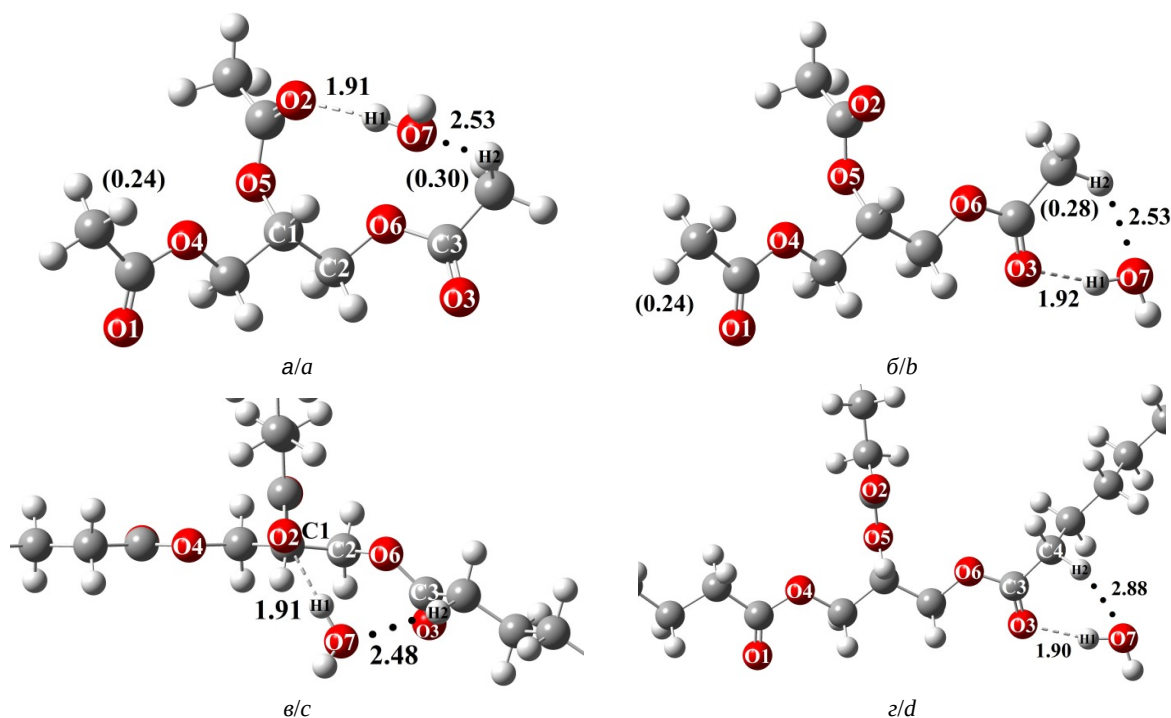


Рис. 5. Пространственная структура моногидратов триацетина: Тип 1 (а), Тип 2 (б). Фрагменты структуры моногидратов тристеарина: Тип 1 (в), Тип 2 (г), оптимизированные методом B3LYP/6-31+G(d). Пунктирными линиями обозначены классические водородные связи, точками – неклассические водородные связи. Буквами с номерами отмечены все атомы кислорода, некоторые атомы углерода и водорода, которые необходимы для обсуждения. Цифрами указаны длины водородных связей в ангстремах. Цифрами в скобках заряды на атомах по Малликену

Fig. 5. Spatial structure of triacetin monohydrates: Type 1 (a), Type 2 (b) and fragments of the structure of triastearol monohydrates Type 1 (c), Type 2 (d) optimized by the B3LYP/6-31+G(d) method. Classical hydrogen bonds are marked with dash lines, non-classical hydrogen bonds are marked with dots. All oxygen atoms, some carbon and hydrogen atoms, which are necessary for the discussion, are marked with letters with numbers. The numbers indicate the lengths of hydrogen bonds in angstroms. The numbers in brackets indicate the charges on the atoms according to Mulliken



тина и триацетина оптимизированные методом B3LYP/6-31+G(d) показана на рис. 5.

Как видно из рис. 5, пространственная структура моногидратов стабилизируется не только образованием классической ВС О–Н...О, но и образованием неклассических водородных связей (НВС) С–Н...О где донором протона выступают метильные и метиленовые группы. Подтверждением образования этих связей служит изменение зарядов на атомах водорода H2 по сравнению с симметричными их аналогами на другой цепи. В случае моногидрата Типа 1 молекула воды выступает мостиком между центральной и боковой цепью триглицерида. Образование НВС заметно влияет на пространственную структуру цепей триглицеридов. Образование НВС в моногидратах Типа 1 приводит к сильному отклонению цепи рис. 5, в от первоначального направления, двугранный угол C1C2O6C3 изменяется на 46 градусов. Аналогичная ситуация наблюдается в моногидратах Типа 2, двугранный угол O6C3C4H2 меняется на 89 градусов. Исключением является триацетин, поскольку при

оптимизации пространственной конфигурации с образованием НВС практически не потребовалось вращать цепь. При переходе от триацетина к более длинным триглицеридам меняется длина НВС, что связано с заменой метильной группы на метиленовую. В моногидратах Типа 1 она немного уменьшается, а для Типа 2 значительно увеличивается. Расчет термодинамических параметров (табл. 2) показывает, что моногидраты Типа 1 в сравнении с Типом 2 являются заметно более стабильными, что согласуется с данными молекулярной динамики.

Анализ термодинамических параметров показал, что для моногидратов наблюдаются несколько регрессионных зависимостей между параметрами ассоциации и длиной углеводородных цепей, которые стоит обсудить. Графическое представление этих зависимостей показано на рис. 6.

Как видно из рис. 6 линейная зависимость между энергией ассоциации и длиной цепей для обоих моногидратов слабо обусловлена, применение полиномиальной зависимости второй

Таблица 2 / Table 2

Длины водородных связей R_H в ангстремах, разница электронных энергий ΔE , суперпозиционная ошибка $BSSE$, термодинамические характеристики (энтальпия ΔH для температур 0K и 298.15 K) в единицах кДж/моль и константы равновесия моногидратов триглицеридов насыщенных кислот, рассчитанные методом B3LYP / 6-31+G (d) / wB97XD / 6-311+G (d,p)

Hydrogen bond lengths in angstroms, electron energy difference, superposition error, thermodynamic characteristics in kJ/mol units, and equilibrium constants of saturated acid triglyceride monohydrates calculated by the B3LYP / 6-31+G (d) / wB97XD / 6-311+G (d,p) method

Перечень моногидратов. Тип 1 / List of monohydrates of the Type 1	R_H	ΔE	$BSSE$	ΔZPE	ΔH_0^0	$\Delta H_{298.15}^0$	$T\Delta S$	K_α
Триацетин / Triacetin	1.91	-36.8	3.8	8.8	-24.2	-25.9	-37.0	1.1×10^{-2}
Трибутирин / Tributyrin	1.91	-37.1	4.1	8.6	-24.4	-25.8	-37.0	1.1×10^{-2}
Трикаприлин / Tricaprylin	1.91	-37.4	4.2	8.6	-24.6	-26.0	-37.8	8.3×10^{-3}
Трикаприн / Tricaprin	1.91	-37.4	4.2	8.6	-24.6	-25.9	-38.1	7.3×10^{-3}
Трилаурин / Trilaurin	1.91	-37.4	4.2	8.9	-24.3	-25.8	-38.8	5.4×10^{-3}
Тримиристин / Trimyristin	1.91	-37.4	4.2	8.7	-24.5	-25.9	-38.4	6.4×10^{-3}
Трипальмитин / Tripalmitin	1.91	-37.5	4.2	8.7	-24.5	-25.9	-38.7	5.6×10^{-3}
Тристearин / Tristearin	1.91	-37.3	4.2	8.8	-24.3	-25.7	-39.2	4.4×10^{-3}
Перечень моногидратов. Тип 2 / List of monohydrates of the Type 2	R_H	ΔE	$BSSE$	ΔZPE	ΔH_0^0	$\Delta H_{298.15}^0$	$T\Delta S$	K_α
Триацетин / Triacetin	1.92	-29.6	2.0	7.8	-19.8	-20.6	-32.1	9.6×10^{-3}
Трибутирин / Tributyrin	1.91	-30.6	2.4	9.2	-19.0	-20.2	-34.0	3.7×10^{-3}
Трикаприлин / Tricaprylin	1.90	-31.6	2.6	9.5	-19.4	-20.8	-35.0	3.2×10^{-3}
Трикаприн / Tricaprin	1.90	-31.6	2.5	9.5	-19.6	-20.9	-34.7	3.8×10^{-3}
Трилаурин / Trilaurin	1.90	-31.7	2.6	9.3	-19.8	-21.0	-33.8	5.7×10^{-3}
Тримиристин / Trimyristin	1.90	-31.5	2.5	9.4	-19.6	-20.8	-34.2	4.7×10^{-3}
Трипальмитин / Tripalmitin	1.90	-31.6	2.6	9.6	-19.5	-20.8	-34.7	3.6×10^{-3}
Тристearин / Tristearin	1.90	-31.7	2.6	9.0	-20.1	-21.0	-31.9	1.2×10^{-2}

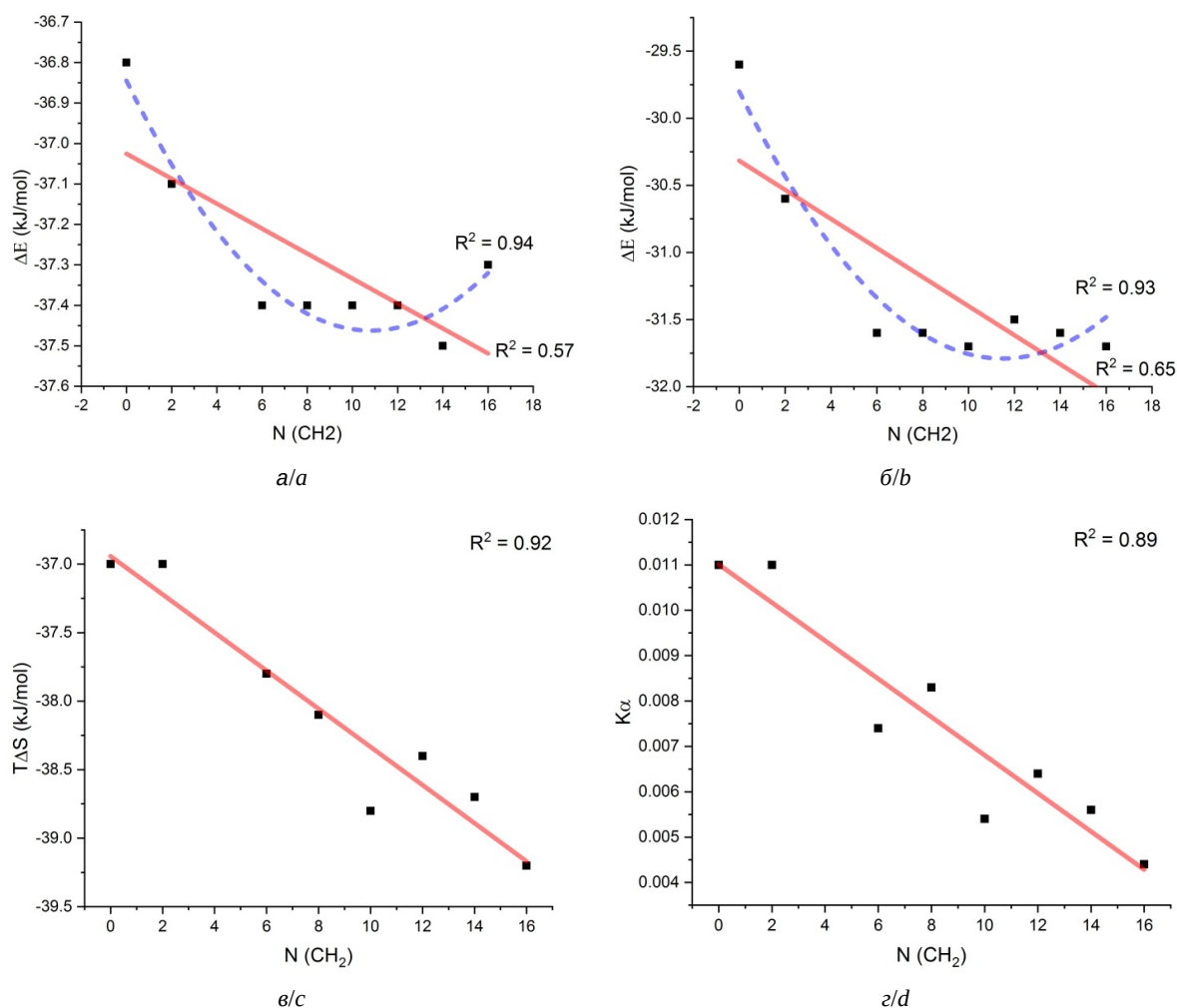


Рис. 6. Зависимость от количества метиленовых групп: величины ΔE – Тип 1 (а), Тип 2 (б); величины $T\Delta S$ (в) и константы равновесия K_α (г) моногидратов Тип 1. Сплошной линией на рисунках показана прямая линейной регрессии, пунктирной линией – полиномиальная регрессия второй степени. Приведены значения коэффициента детерминации R^2 (цвет онлайн)

Fig. 6. Dependence on the number of methylene groups of the value: of ΔE for Type 1 (a) and Type 2 (b); the value of $T\Delta S$ (c), and the equilibrium constant K_α (d) for Type 1 monohydrates. The solid line in the figures represents the linear regression line, the dashed line shows the second-degree polynomial regression, and the corresponding coefficients of determination R^2 are also provided (color online)

степени дает хорошие значения детерминации, но появляется минимум в области 11 метиленовых групп, которые сложно объяснить. Скорее всего за счет изменения структурных параметров, к которым относятся появление метиленовых групп и начальное удлинение цепей, непосредственно влияющих на структуру моногидратов, энергия ассоциации увеличивается до трикаприлина, а дальше остается стабильной с небольшими отклонениями. Для значений энтальпии, которые кроме энергии включают в себя и другие параметры, наблюдается аналогичная ситуация. Для моногидратов Типа 1 в отличие от Типа 2 существуют явные линейные регресси-

онные зависимости параметров $T\Delta S$ и константы равновесия K_α от длины углеводородной цепи рис. 6, в, г. Это указывает на то, что моногидраты Типа 1, в которых одна молекула воды связывает две цепи, влияют на изменение энтропии иначе, чем моногидраты Типа 2. При этом по мере увеличения длины цепей число допустимых конформаций связанных цепей уменьшается по сравнению с их возможным количеством в отсутствие гидратации. Для Типа 2 такая зависимость не наблюдается, что судя по всему связано с тем, что гидратирование затрагивает только ограниченную часть одной цепи. Падение константы равновесия для Типа 1 объясняется



тем, что для длинных цепей гидратация требует больших энергозатрат на преодоления потери конформационной энтропии.

Заключение

На основании комплексного молекулярного моделирования можно заключить, что атом кислорода карбонильной группы центральной цепи является центром гидратации насыщенных триглицеридов, поскольку молекулярная динамика показывает наибольшую заселенность образования ВС с молекулами воды, а квантовая механика наибольшую энергию ассоциации. Энергия и энтальпии ассоциации моногидратов Типа 1 и Типа 2 не имеют уверенной регрессионной зависимости от длины углеводородной цепи. Начиная с трикаприлина эти параметры выходят на насыщение с небольшими отклонениями. До трикаприлина изменение этих параметров связано с изменением стерических затруднений при начальном увеличении цепей, что, в частности, предполагает замену метильной группы на метиленовую при образовании НВС для стабилизации моногидрата. Существует линейная регрессия параметров $T\Delta S$ и K_α от длины углеводородной цепи для моногидрата Типа 1. Причина заключается в том, что с увеличением длины цепей количество доступных конформаций для двух связанных цепей становится меньше по сравнению с их числом в отсутствие гидратации. Поэтому для более длинных цепей процесс гидратации сопровождается большими энергозатратами, необходимыми для компенсации потери конформационной энтропии. Результаты работы вносят вклад в понимание механизмов гидратации триглицеридов и их роли в стабилизации водно-органических взаимодействий, что имеет значение для пищевой промышленности, фармацевтики и разработки липидных носителей.

Список литературы / References

1. McClements D. J. *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques*. 3rd edition. Boca Raton, CRC Press, 2015. 714 p. <https://doi.org/10.1201/b18868>
2. Ravotti R., Worlitschek J., Pulham C., Stamatiou A. Triglycerides as novel phase-change materials: A review and assessment of their thermal properties. *Molecules*, 2020, vol. 25, iss. 23, art. 5572. <https://doi.org/10.3390/molecules25235572>
3. Tascini A. S., Noro M. G., Chen R., Seddon J. M., Bresme F. Understanding the interactions between sebum triglycerides and water: A molecular dynamics simulation study. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2018, vol. 20, iss. 3, pp. 1848–1860. <https://doi.org/10.1039/C7CP06889A>
4. Chumpitaz L. D. A., Coutinho L. F., Meirelles A. J. A. Surface tension of fatty acids and triglycerides. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 1999, vol. 76, iss. 3, pp. 379–382. <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0245-6>
5. Javadi A., Dowlati S., Shourni S., Rusli S., Eckert K., Miller R., Kraume M. Enzymatic hydrolysis of triglycerides at the water–oil interface studied via interfacial rheology analysis of lipase adsorption layers. *Langmuir*, 2021, vol. 37, iss. 44, pp. 12919–12928. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c01963>
6. Caruso B., Wilke N., Perillo M. A. Triglyceride lenses at the air–water interface as a model system for studying the initial stage in the biogenesis of lipid droplets. *Langmuir*, 2021, vol. 37, iss. 37, pp. 10958–10970. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c01359>
7. Kinard T. C., Wrenn S. P. Triglycerides stabilize water/organic interfaces of changing area via conformational flexibility. *Langmuir*, 2024, vol. 40, iss. 5, pp. 2500–2509. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.3c02473>
8. Cao Y., Marra M., Anderson B. D. Predictive relationships for the effects of triglyceride ester concentration and water uptake on solubility and partitioning of small molecules into lipid vehicles. *J. Pharm. Sci.*, 2004, vol. 93, iss. 11, pp. 2768–2779. <https://doi.org/10.1002/jps.20126>
9. Benedikt T., Briesen K. H. Water–triglyceride interfaces limit permeability and diffusion of aromamolecules in butter. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2024, vol. 126, iss. 12, art. 2300248. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202300248>
10. Groot C. C. M., Velikov K. P., Bakker H. J. Structure and dynamics of water molecules confined in triglyceride oils. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2016, vol. 18, iss. 42, pp. 29361–29368. <https://doi.org/10.1039/C6CP05883C>
11. Papageorgiou D. G., Demetropoulos I. N., Lagaris I. E., Papadimitriou P. T. How many conformers of the 1,2,3-propanetriol triacetate are in gas phase and in aqueous solution? *Tetrahedron*, 1996, vol. 52, iss. 2, pp. 677–686. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(95\)00918-3](https://doi.org/10.1016/0040-4020(95)00918-3)
12. Berezin K. V., Dvoretiskii K. N., Chernavina M. L., Novoselova A. V., Nechaev V. V., Likhter A. M., Shagautdinova I. T., Smirnov V. V., Antonova E. M., Grechukhina O. N. The use of IR spectroscopy and density functional theory for estimating the relative concentration of triglycerides of oleic and linoleic acids in a mixture of olive and sunflower seed oils. *Opt. Spectrosc.*, 2019, vol. 127, iss. 6, pp. 955–961. <https://doi.org/10.1134/S0030400X1912004X>
13. Berezin K. V., Dvoretiskii K. N., Chernavina M. L., Novoselova A. V., Nechaev V. V., Antonova E. M., Shagautdinova I. T., Likhter A. M. The Use of Raman spectroscopy and methods of quantum chemistry for assessing the relative concentration of triglycerides of oleic and linoleic acids in a mixture of olive oil and sunflower seed oil. *Opt. Spectrosc.*, 2018, vol. 125, iss. 3, pp. 311–316. <https://doi.org/10.1134/S0030400X18090059>
14. Berezin K. V., Antonova E. M., Shagautdinova I. T., Chernavina M. L., Dvoretiskiy K. N., Grechukhina O. N., Vasilyeva L. M., Rybakov A. V., Likhter A. M. FT-IR spectrum of grape seed oil and quantum models of



- fatty acids triglycerides. *Proc. SPIE*, 2018, vol. 10716, art. 1071625. <https://doi.org/10.1117/12.2316488>
15. Van der Spoel D., Lindahl E., Hess B., Groenhof G., Mark E. A., Berendsen H. J. C. GROMACS: Fast, flexible, and free. *J. Comput. Chem.*, 2005, vol. 26, iss. 16, pp. 1701–1718. <https://doi.org/10.1002/jcc.20291>
16. Duan Y., Wu C., Chowdhury S., Lee M. C., Xiong G., Zhang W., Yang R., Cieplak P., Luo R., Lee T., Caldwell J., Wang J., Kollman P. A point-charge force field for molecular mechanics simulations of proteins based on condensed-phase quantum mechanical calculations. *J. Comp. Chem.*, 2003, vol. 24, iss. 16, pp. 1999–2012. <https://doi.org/10.1002/jcc.10349>
17. Berendsen H. J. C., Postma J. P. M., van Gunsteren W. F., DiNola A., Haak J. R., Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.*, 1984, vol. 81, iss. 8, pp. 3884–3690. <https://doi.org/10.1063/1.448118>
18. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *J. Mol. Graph.*, 1996, vol. 14, iss. 1, pp. 33–38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
19. Loof H. D., Nilsson L., Rigler R., Molecular dynamics simulation of galanin in aqueous and nonaqueous solution. *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, vol. 114, iss. 11, pp. 4028–4035. <https://doi.org/10.1021/ja00037a002>
20. Frisch M. J., Trucks G., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G. A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H. P., Izmaylov A. F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J. L., Hada M., Ehara M. [et al.]. *Gaussian 09, Revision A.02*. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
21. Kollipost F., Wugt Larsen R., Domanskaya A. V., Nörenberg M., Suhm M. A., Communication: The highest frequency hydrogen bond vibration and an experimental value for the dissociation energy of formic acid dimer. *J. Chem. Phys.*, 2012, vol. 136, iss. 15, art. 151101. <https://doi.org/10.1063/1.4704827>
22. Rocher-Casterline B. E., Ch'ng L. C., Mollner A. K., Reisler H. Communication: Determination of the bond dissociation energy (D_0) of the water dimer, $(\text{H}_2\text{O})_2$, by velocity map imaging. *J. Chem. Phys.*, 2011, vol. 134, iss. 21, art. 211101. <https://doi.org/10.1063/1.3598339>
23. Nakayama T., Fukuda H., Kamikawa T., Sakamoto Y., Sugita A., Kawasaki M., Amano T., Sato H., Sakaki S., Morino I., Inoue G. Effective interaction energy of water dimer at room temperature: An experimental and theoretical study. *J. Chem. Phys.*, 2007, vol. 127, iss. 13, art. 134302. <https://doi.org/10.1063/1.2773726>
24. Ruscic B. Active thermochemical tables: Water and Water Dimer. *J. Phys. Chem. A*, 2013, vol. 117, iss. 46, pp. 11940–11953. <https://doi.org/10.1021/jp403197t>
25. Becke A. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.*, 1993, vol. 98, iss. 7, pp. 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
26. Lee C., Yang W., Parr R. G., Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B*, 1988, vol. 37, iss. 2, pp. 785–789. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>
27. Chai J.-D., Head-Gordon M. Systematic optimization of long-range corrected hybrid density functionals. *J. Chem. Phys.*, 2008, vol. 128, iss. 8, art. 084106. <https://doi.org/10.1063/1.2834918>
28. Simon S., Duran M., Dannenberg J. How does basis set superposition error change the potential surfaces for hydrogen-bonded dimers? *J. Chem. Phys.*, 1996, vol. 105, iss. 24, pp. 11024–11031. <https://doi.org/10.1063/1.472902>
29. Fayfel A. B., Berezin K. V. Program for calculating thermodynamic characteristics of intermolecular complexes based on quantum-mechanical calculations. Tuchin V. V., ed. *Problemy opticheskoy fiziki: Materialy 7 Mezhdunarodnoy molodezhnoy nauchnoy shkoly po optike, lazernoj fizike i biofizike. Vol. 2* [Problems of Optical Physics: Proceedings of the 7th International youth scientific school on optics, laser physics and biophysics. Vol. 2]. Saratov, The State Scientific Center “College” Publ., 2004, pp. 100–101 (in Russian).
30. Iogansen A. V. Infrared spectroscopy and spectral determination of hydrogen bond energy. In: Sokolov N. D., ed. *Vodorodnaya svyaz'* [Hydrogen bond]. Moscow, Nauka, 1981, pp. 112–155 (in Russian).

Поступила в редакцию 30.06.2025; одобрена после рецензирования 06.08.2025;
принята к публикации 10.09.2025; опубликована 28.11.2025

The article was submitted 30.06.2025; approved after reviewing 06.08.2025;
accepted for publication 10.09.2025; published 28.11.2025