

Philippe Cayot - Denis Lorient

Structures et technofonctions
des **protéines du lait**

ARILAIT RECHERCHES



lavoisier
TEC
&
DOC

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	1
1 La production laitière française et ses caractéristiques	1
1.1 Place de la production laitière dans le monde	1
1.2 La filière lait	2
2 Les protéines du lait et leur utilisation fonctionnelle	3
2.1 Poudres de produits laitiers bruts	5
2.2 Caséines et caséinates	6
2.3 Lactosérums concentrés et isolats protéiques de lactosérum	6
3 Comment maîtriser l'utilisation des protéines du lait dans les préparations alimentaires ?	7

PREMIÈRE PARTIE

Structures natives des protéines majeures du lait de vache

Chapitre 1

RAPPEL SUR LA COMPOSITION GLOBALE DU LAIT DE VACHE	15
1.1 La fonction première du lait	15
1.2 L'environnement naturel des protéines du lait de vache	18
1.3 Les matières grasses du lait	19
1.4 Les matières azotées du lait	20

Chapitre 2

LES PROTÉINES MINEURES DU LACTOSÉRUM : DES PROTÉINES À ACTIVITÉS BIOLOGIQUES PARFOIS IMPORTANTES	25
2.1 Les immunoglobulines	25
2.2 La sérum albumine bovine	26

2.3	La lactoferrine	29
2.4	La lactoperoxydase (EC 1.11.1.7)	32
2.5	La phosphatase alcaline (EC 3.1.3.1)	32
2.6	La catalase (EC 1.11.1.6)	32
2.7	La sulfhydryle oxydase	33
2.8	La lactophorine et le lysozyme (EC 3.2.1.24) : des agents antibactériens du lait	33
2.9	La plasmine (EC 3.4.21.7)	33
2.10	Les fragments peptidiques issus de l'hydrolyse de caséines	35

Chapitre 3

PROTÉINES « MAJEURES » DU LACTOSÉRUM

3.1	La β -lactoglobuline	37
3.1.1	Structure primaire de la β -lactoglobuline	37
3.1.2	Structure secondaire de la β -lactoglobuline	39
3.1.3	Structure tertiaire de la β -lactoglobuline	40
3.1.4	Structure quaternaire de la β -lactoglobuline	43
3.2	L' α -lactalbumine	43
3.2.1	Structure primaire de l' α -lactalbumine	44
3.2.2	Structure secondaire de l' α -lactalbumine	45
3.2.3	Structure tertiaire de l' α -lactalbumine	45
3.2.3.1	Vue d'ensemble	45
3.2.3.2	Le dernier modèle de structure III de l' α -lactalbumine	46
3.2.3.3	Rôle du calcium dans la structure de l' α -lactalbumine	48
3.2.3.4	Site de fixation du zinc distinct de celui du calcium	49
3.2.3.5	Fonction de la « boîte hydrophobe » dans la synthèse du lactose	50

Chapitre 4

LA MICELLE DE CASÉINE

4.1	Trente ans d'histoire du lait ; caractéristiques microscopiques et granulométriques	51
4.1.1	Taille et forme	51
4.1.2	Composition	52
4.1.3	Propriétés physicochimiques et facteurs de stabilité	53
4.1.4	Différents concepts de la structure micellaire	53
4.2	Les unités protéiques constituant la micelle de caséine	55
4.2.1	La caséine α_{s1} : le squelette interne de la micelle ?	55
4.2.1.1	La structure primaire de la caséine α_{s1}	55
4.2.1.2	La structure secondaire de la caséine α_{s1}	57
4.2.1.3	La structure spatiale de la caséine α_{s1}	57
4.2.1.4	Position possible de la caséine α_{s1} dans la micelle de caséine	58
4.2.2	La caséine α_{s2} : une structure bien équilibrée	58
4.2.2.1	La structure primaire de la caséine α_{s2}	58
4.2.2.2	La structure secondaire et spatiale de la caséine α_{s2}	60
4.2.2.3	Position possible de la caséine α_{s2} dans la micelle de caséine	61
4.2.3	La caséine β : une zone très hydrophobe pour une semi-liberté	61

4.2.3.1	La structure primaire de la caséine β	62
4.2.3.2	La structure II de la caséine β	63
4.2.3.3	La structure spatiale de la caséine β	64
4.2.4	La caséine κ constitue la « chevelure » stabilisante	65
4.2.4.1	La structure primaire de la caséine κ	66
4.2.4.2	La structure secondaire de la caséine κ	68
4.2.4.3	La structure tertiaire de la caséine κ	69
4.3	Modèle(s) actuel(s) de la micelle de caséine	72
4.3.1	Les submicelles de caséine : un ensemble très différencié	72
4.3.2	Une architecture générale de la micelle très hiérarchisée	75
4.3.3	Le granule de phosphate de calcium dans la micelle : un état métastable	76
4.3.4	La stabilisation de la micelle par une « chevelure » chargée	79

Chapitre 5

RÉFLEXIONS SUR LA MODÉLISATION MOLÉCULAIRE	81
---	----

Chapitre 6

SYNTHÈSE	83
-----------------------	----

6.1	Les protéines dans leur milieu natif ; proposition d'un modèle global	83
6.2	Impact nutritionnel des différentes structures protéiques	86
6.2.1	Vitamines	86
6.2.2	Minéraux	86
6.2.3	Protéines	86
6.3	Impact toxicologique	87

CONCLUSION DE LA PREMIÈRE PARTIE	91
---	----

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUES	91
---	----

DEUXIÈME PARTIE

Effets des technologies sur la structure des protéines du lait

INTRODUCTION	105
---------------------------	-----

Chapitre 7

EFFETS DES TRAITEMENTS THERMIQUES SUR LA STRUCTURE DES PROTÉINES	107
---	-----

7.1	Abaissement de température	107
7.1.1	Réfrigération	108
7.1.1.1	Effets de la réfrigération sur la micelle	108

	7.1.1.2	Influence du pH sur les effets de la réfrigération	109
	7.1.1.3	Réfrigération et composition minérale de la micelle	110
	7.1.1.4	Effet de la réfrigération sur la β -lactoglobuline	110
	7.1.1.5	Protéolyse et lipolyse induites par la réfrigération	110
	7.1.2	Congélation	112
	7.1.3	Dessiccation par lyophilisation	113
7.2		Chauffage des protéines sériques	114
	7.2.1	Dénaturation thermique de l' α -lactalbumine seule en solution	114
	7.2.1.1	Dénaturation réversible	115
	7.2.1.2	Dénaturation irréversible	115
	7.2.2	Dénaturation thermique de la β -lactoglobuline seule en solution	116
	7.2.2.1	Chauffage à pH $\geq 6,5$	117
	7.2.2.2	Réactivité du groupe sulfhydryle	118
	7.2.2.3	Chauffage à pH $< 6,5$	118
	7.2.2.4	Chauffage à un pH voisin du pI	118
	7.2.2.5	Différence dans la dénaturation des variants génétiques de la β -lactoglobuline	119
	7.2.2.6	Effet des oses sur le comportement thermique de la β -lactoglobuline	119
	7.2.2.7	Influence de l'environnement minéral	120
	7.2.2.8	Présence d'autres protéines	120
	7.2.3	Dénaturation des protéines sériques seules	120
	7.2.3.1	Lactosérum à pH < 4	125
	7.2.3.2	Précipitation thermique des protéines du lactosérum à $4,0 \leq \text{pH} < 6,5$	125
	7.2.3.3	Thermo-dénaturation à pH $\geq 6,5$	127
	7.2.3.4	Influence de la composition des concentrés de lactosérum	128
7.3		Chauffage de la micelle et des caséinates seuls	128
	7.3.1	Effet du chauffage sur les liaisons phosphocalciques dans la micelle	129
	7.3.2	Flexibilité des caséines dans la micelle et échange avec le sérum	129
	7.3.3	Coagulation thermique de suspensions de micelles de caséine	132
	7.3.4	Agrégation du caséinate de sodium en suspension	133
7.4		Chauffage des protéines du lait	133
	7.4.1	Dénaturation des protéines sériques dans le lait	135
	7.4.2	Formation de complexes β -lactoglobuline/caséine κ lors d'un traitement thermique	135
	7.4.3	Diminution de la susceptibilité à l'hydrolyse par la présure de la micelle suite au chauffage du lait	136
	7.4.4	Importance du phénotype dans les phénomènes d'association protéique thermo-induits	137
	7.4.5	Associations thermo-induites entre micelles et protéines sériques autres que la β -lactoglobuline	137
	7.4.6	Modification de la taille des micelles lors d'un traitement thermique et impact sur la viscosité de produits laitiers	138
	7.4.7	Changements des équilibres salins du lait provoqués par un chauffage	140
	7.4.8	Intervention des globules gras dans la dénaturation thermique des protéines	140
	7.4.9	Inactivation d'enzymes du lait par la chaleur	140
	7.4.9.1	Inactivation de la phosphatase alcaline	140
	7.4.9.2	Inactivation de la lactoperoxydase	140
	7.4.9.3	Inactivation thermique de la plasmine	140
	7.4.9.4	Inactivation thermique des lipases	140

7.4.10	Modification de l'hydrophobicité de surface des protéines du lait lors d'un chauffage	142
7.5	Cas particulier des réactions de Maillard ; autres réactions	143
7.6	Thermocoagulation du lait	145
7.6.1	Relation entre thermocoagulation et l'énergie potentielle d'attraction en surface de la micelle	145
7.6.2	Rôle de l'association β -lactoglobuline/caséine κ en surface de micelle sur la thermocoagulation du lait	146

Chapitre 8

TRAITEMENTS MÉCANIQUES		149
8.1	Procédés à membranes	149
8.1.1	Ultrafiltration ; microfiltration	149
8.1.2	Déminéralisation par dialyse	152
8.2	Homogénéisation	153
8.2.1	Modification dans la composition de la surface des globules gras lors de l'homogénéisation	153
8.2.2	Effet du chauffage sur un lait homogénéisé	155
8.2.3	Effet de l'homogénéisation sur l'aptitude d'un lait à la coagulation par la chymosine	156
8.2.4	Homogénéisation et lipolyse	157
8.3	Agitation mécanique et activité enzymatique	157

Chapitre 9

MODIFICATIONS CHIMIQUES (BIOCHIMIQUES) DE L'ENVIRONNEMENT DES PROTÉINES DU LAIT		159
9.1	Changements de force ionique	159
9.1.1	Effet des ions calcium et sodium sur la résistance à la dénaturation thermique de l'apo- α -lactalbumine	159
9.1.2	Influence de l'environnement minéral sur la structure de la β -lactoglobuline	160
9.1.2.1	Effet de l'ajout de sels à température ambiante sur la structure de la β -lactoglobuline	160
9.1.2.2	Effet de l'ajout de sels sur la modification thermo-induite de la structure de la β -lactoglobuline	160
9.1.3	Influence de l'environnement ionique sur l'agrégation thermique ou la polymérisation des protéines du lactosérum	162
9.1.4	Effet de l'addition de sels sur la micelle de caséine	163
9.2	Modification du pH	164
9.2.1	Effet du pH sur la structure de l' α -lactalbumine	164
9.2.2	Effet du pH sur la structure de la β -lactoglobuline	165
9.2.3	Dénaturation thermique de protéines du lactosérum en fonction du pH	166
9.2.4	Modifications de la micelle par acidification	167
9.3	Traitements enzymatiques	168
9.3.1	Chymosine	169
9.3.2	Action d'autres enzymes sur les protéines du lait	171

9.4	Autres types de modification de l'environnement des protéines	172
9.4.1	Addition d'urée	172
9.4.2	Effets des complexants de minéraux	172
9.4.3	Addition de polyosides	173
9.4.4	Addition d'alcool	173
9.4.5	Addition de dioxyde de carbone	174
9.4.6	Influence de l'ajout de lécithine sur la stabilité thermique de lait reconstitué	175
9.4.7	Influence de l'ajout de protéines non laitières avant chauffage du lait sur la coagulation par la chymosine	175
9.4.8	Effet de l'ajout de tensio-actifs sur la protéolyse du lait	175
9.5	Stockage ; effet des réactions à faible cinétique	176
9.5.1	Stockage du lait UHT	176
9.5.2	Stockage d'émulsions stabilisées par des protéines sériques	177
9.6	Cas particulier de réactions chimiques à l'usage du laboratoire	177
9.6.1	Oxydation des groupes thiol et réduction des ponts disulfure	177
9.6.2	Greffage « covalent » sur des protéines laitières d'éléments non protéiques	178

Chapitre 10

LES TECHNOLOGIES NOUVELLES	179
10.1 Les micro-ondes	179
10.2 Les ultraviolets	179
10.3 Les ultrasons	180
10.4 Les champs électriques pulsés de haute intensité	180
10.5 Les hautes pressions	181
CONCLUSION DE LA DEUXIÈME PARTIE	183
RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUES	189

TROISIÈME PARTIE

Quelques propriétés fonctionnelles des protéines laitières

Chapitre 11

LES PROPRIÉTÉS D'HYDRATATION DES PROTÉINES	209
11.1 Rôle de l'eau dans les propriétés fonctionnelles	209
11.2 Théories sur les interactions protéines/eau	210
11.2.1 Nature des interactions protéine/eau	210
11.2.2 Les différents états de l'eau dans l'environnement protéique	211
11.3 Méthodologie pour la mesure de propriétés d'hydratation	212
11.3.1 Dispersibilité et pénétrabilité de poudre de protéine	212
11.3.1.1 La dispersibilité	212
11.3.1.2 La pénétrabilité	212
11.3.2 Mouillabilité de poudre de protéine ; aptitude au gonflement	213

11.3.3	Capacité d'absorption d'eau par les poudres de protéines	213
11.3.4	Seuil de mobilisation des groupements de la protéine	214
11.3.5	Rétention d'eau des poudres de protéine	214
11.3.6	Solubilité des protéines	215
11.4	Dispersibilité des poudres laitières	216
11.4.1	Dispersibilité d'une poudre enrichie en micelles de caséines	217
11.4.2	Dispersibilité de poudre de lait entier	217
11.5	Capacité d'absorption d'eau des poudres laitières	218
11.5.1	Importance de l'activité de l'eau dans la conservation d'une poudre	218
11.5.2	Relation entre la quantité d'eau fixée et l'activité en eau du système	218
11.5.3	Influence de la nature de la protéine sur la quantité d'eau fixée	219
11.5.4	Influence des conditions de milieu sur les propriétés d'hydratation	221
11.5.4.1	Influence du pH	221
11.5.4.2	Influence des sels présents en solution	222
11.5.4.3	Influence de la présence de lactose dans une poudre de lait	222
11.6	Solubilité des protéines laitières	223
11.6.1	Solubilité des caséines	223
11.6.2	Solubilité des protéines du lactosérum	227

Chapitre 12

APTITUDE À LA GÉLIFICATION DES PROTÉINES DU LAIT	229
12.1 Définitions et descriptions. Mécanismes de gélification	229
12.1.1 Définition d'un gel	229
12.1.2 Natures des gels	230
12.1.3 Description du concept fractal	232
12.1.4 Évaluation des propriétés gélifiantes des protéines ; mesures de rhéologie	234
12.1.5 Introduction aux mesures rhéologiques en régime dynamique	235
12.2 Gélification par acidification	236
12.2.1 Le processus de gélification par acidification du lait	236
12.2.2 Influence des paramètres du milieu sur la rhéologie des gels acides	238
12.2.2.1 Température durant l'acidification	239
12.2.2.2 Rôle du calcium dans la gélification par acidification	240
12.2.2.3 Effet de la force ionique	241
12.2.2.4 Influence de la teneur en caséine	242
12.2.2.5 Influence du paramètre microbiologique	244
12.2.3 Conséquences des traitements technologiques précédant la gélification	245
12.2.3.1 Incidence de la présence de matière grasse sur la texture de gel acide	245
12.2.3.2 Influence des traitements thermiques	246
12.2.4 Influence des traitements mécaniques après formation du gel	248
12.3 Gélification enzymatique	248
12.3.1 Transglutaminase	248
12.3.2 Mécanisme de gélification du lait emprésuré	248
12.3.2.1 Phase enzymatique	249
12.3.2.2 Déroulement de la phase de coagulation	249
12.3.3 Conditions favorisant la phase de coagulation	251
12.3.4 Évolution rhéologique du système au cours de la phase finale de la coagulation	251
12.3.5 Comparaison de la structure du gel acide et de celle du gel « présure »	252

12.3.6	Influence des paramètres du milieu sur la gélification par emprésurage	254
12.3.6.1	Influence de la teneur protéique	254
12.3.6.2	Influence de la présure utilisée	255
12.3.6.3	Influence de la température lors de la coagulation par emprésurage	255
12.3.6.4	Influence du pH	255
12.3.6.5	Influence de la concentration en chlorure de sodium	256
12.3.6.6	Influence de la concentration en ions calcium	257
12.3.6.7	Influence de paramètres génétiques	257
12.3.6.8	Présence de gouttelettes lipidiques	258
12.3.7	Effet du chauffage de caillés de lait emprésuré	258
12.3.8	Évolution du caillé au cours du temps ; maturation des fromages	259
12.4	Gélification par chauffage	259
12.4.1	Mécanisme de gélification thermotropique	259
12.4.1.1	Relation entre la dénaturation des protéines et la gélification thermotropique	260
12.4.1.2	Processus d'association des protéines lors de la gélification thermotropique	260
12.4.1.3	Rapport entre les interactions responsables des associations protéiques et les propriétés mécaniques des gels thermotropiques	261
12.4.1.4	Concentration protéique minimale pour l'obtention d'une gélification thermotropique	262
12.4.1.5	Début de la transition sol-gel thermotropique	263
12.4.1.6	Relation entre la vitesse de chauffage ou de refroidissement et la structure du gel thermotropique	264
12.4.1.7	Nature fractale des gels thermotropiques	264
12.4.1.8	Thermocoagulation de protéines préalablement thermodénaturées	264
12.4.2	Influence des paramètres du milieu sur le comportement rhéologique des gels thermotropiques	264
12.4.2.1	Influence de la température sur la gélification thermotropique	265
12.4.2.2	Influence de la concentration protéique	266
12.4.2.3	Influence du pH	269
12.4.2.4	Rôle de l'établissement de ponts disulfure à pH > 6,5	271
12.4.2.5	Influence de la force ionique	272
12.4.2.6	Influence de la présence de matière grasse émulsionnée lors d'une gélification thermotropique	276
12.4.2.7	Effet du traitement de cisaillement avant gélification thermotropique	277
12.4.2.8	Effet des protéolyses limitées	277
12.4.3	Gélification thermotropique de caséine	277
12.5	Gélification des mélanges de protéines et de polysides	278
12.5.1	Mécanisme de formation des complexes polyholoside/protéine	278
12.5.1.1	Formation de micelles lors de mélanges protéine-polyside	279
12.5.1.2	Associations entre colloïdes de charges opposées	279
12.5.1.3	Associations entre colloïdes de même charge	279
12.5.1.4	Spécificité de chaque polyside et importance de la teneur en sels du milieu	279
12.5.1.5	Distinction entre les complexes M et les complexes T	280
12.5.1.6	Utilisation de ces complexes comme agents gélifiants	280
12.5.2	Cas de l'incompatibilité thermodynamique	28
12.5.3	Application de l'incompatibilité thermodynamique à la concentration de solutions protéiques	28

12.5.4	Gélification biphasique	283
12.5.4.1	Gélification d'un système à multicomposants incompatibles	284
12.5.4.2	La gélification de systèmes à multicomposants coopératifs	286

Chapitre 13

PROPRIÉTÉS ÉMULSIFIANTES	287
13.1 Généralités sur les émulsions	287
13.1.1 Conditions de création d'une émulsion	287
13.1.1.1 Activité de surface	288
13.1.1.2 Création de gouttelettes dispersées dans une phase continue	289
13.1.2 Conditions de stabilisation d'une émulsion	290
13.1.3 Méthodologie	292
13.1.4 Comparaison de propriétés émulsifiantes de quelques protéines du lait	292
13.2 Changement de conformation lors de l'adsorption des protéines à l'interface lipide/eau	294
13.2.1 Mécanisme d'adsorption et de stabilisation ; conformation des protéines à l'interface lipide/eau	295
13.2.1.1 Conformation des protéines jugées comme « flexibles »	295
13.2.1.2 Conformation des protéines globulaires	297
13.2.1.3 Théorie des protéines globulaires « dures » et des protéines « molles »	298
13.2.2 Comportement mécanique du film stabilisant l'interface lipide/eau	299
13.2.3 Paramètres de milieu conditionnant la stabilité d'une émulsion	300
13.2.3.1 Paramètres agissant sur le crémage	301
13.2.3.2 Influence de la concentration de protéines à l'interface lipide/eau sur la floculation	301
13.2.3.3 Influence de la concentration de protéines à l'interface lipide/eau sur la coalescence	302
13.2.3.4 Influence de la dénaturation thermique préalable des protéines sur la stabilité d'une émulsion	303
13.2.3.5 Effet de l'hydrolyse préalable des protéines sur les propriétés émulsifiantes	304
13.2.3.6 Influence des ions calcium sur la stabilité d'une émulsion	305
13.2.3.7 Effet du chlorure de sodium sur la stabilité d'une émulsion	305
13.2.3.8 Effet du pH sur la stabilité d'une émulsion	306
13.2.3.9 Effet de l'addition d'éthanol sur la stabilité d'une émulsion	307
13.3 Adsorption compétitive	307
13.3.1 Adsorption compétitive entre protéines	307
13.3.1.1 Compétition entre caséine α_{s1} et caséine β	307
13.3.1.2 Mélange de caséine α_{s1} , de caséine β et de caséine κ	308
13.3.1.3 Adsorption compétitive entre α -lactalbumine et β -lactoglobuline	308
13.3.1.4 Adsorption compétitive entre caséine β et les protéines sériques	309
13.3.1.5 Cas d'adsorption compétitive totale	309
13.3.2 Adsorption compétitive entre protéines et surfactants non protéiques	309
13.3.2.1 Adsorption compétitive entre protéines et surfactants ioniques	310
13.3.2.2 Adsorption compétitive entre protéines et surfactants non-ioniques	310
13.3.2.3 Modification de l'adsorption compétitive protéine/surfactant hydrosoluble par la présence de surfactants liposolubles	310
13.3.2.4 Modification de l'adsorption compétitive protéine/protéine lors d'ajout de surfactants	311

13.4	Coadsorption	312
13.4.1	Coadsorption protéine/protéine	312
13.4.2	Coadsorption protéine/polyoside	312
13.4.3	Intérêt de liaisons « covalentes » entre le polyoside et la protéine	313
13.4.4	Coadsorption protéine/surfactant	315

Chapitre 14

APTITUDES DES PROTÉINES À LA FORMATION ET À LA STABILISATION DE MOUSSES	317
14.1 Analyse critique des méthodes utilisées pour l'étude des mousses alimentaires	318
14.1.1 Non concordance des différentes méthodes d'analyse	319
14.1.2 Méthode par battage	319
14.1.3 Méthode par injection de gaz	320
14.2 Aptitude des protéines à favoriser la formation de mousse	321
14.2.1 Généralités sur l'aptitude des protéines à faciliter la formation d'une mousse	321
14.2.2 Comparaison de l'aptitude au foisonnement des caséines et des protéines sériques	322
14.2.3 Variations dans l'aptitude au foisonnement des mélanges commerciaux de protéines sériques	322
14.3 Aptitude des protéines à la stabilisation des mousses	323
14.3.1 Processus de déstabilisation des mousses	323
14.3.1.1 Les premières conséquences du drainage	323
14.3.1.2 La « disproportionation » des bulles	324
14.3.1.3 Amincissement et rupture du film interstitiel	325
14.3.1.4 Cohésion du film	326
14.3.2 Conditions de milieu favorables à la stabilisation de mousse de solutions de caséinate ou de protéines sériques	326
14.3.2.1 La concentration protéique	326
14.3.2.2 Type de protéine	326
14.3.2.3 Teneur en matériaux insolubles dans les poudres de protéines	327
14.3.2.4 Importance du pH	327
14.3.2.5 Effet de la force ionique	330
14.3.2.6 Effet des dénaturations thermiques des protéines sériques sur l'aptitude à la stabilisation des mousses	330
14.3.3 Addition d'alcool	331
14.3.4 Présence de matière grasse	331
14.3.5 Addition de saccharose	331
14.3.6 Coopération entre protéines et polyosides pour le maintien d'une mousse	331
14.3.7 Coopération entre protéines à l'interface eau/air	332
SYNTHÈSE ET CONCLUSION DE LA TROISIÈME PARTIE	333
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	337
CONCLUSION GÉNÉRALE	356
ANNEXE	359
INDEX	361