

Valorisation biotechnologique des sous produits de l'olivier par Fermentation en Milieu Solide

S. Roussos¹, I.Perraud-Gaime¹, H.Lakhtar¹, F.Aouidi¹, Y.Labrousse¹, N.Belkacem¹, H.Macarie¹, J.Artaud²

Résumé

L'oléiculture et l'oléologie ont profondément évolué ces dernières décennies. Cette évolution a notamment entraîné des modifications importantes à tous les niveaux de la filière oléicole. Ainsi, au niveau agronomique, la culture de l'olivier s'oriente vers des productions biologiques avec un minimum d'entrants (engrais, pesticides...); au niveau technologique, les récoltes se sont mécanisées et automatisées permettant de réduire considérablement les délais entre la récolte et la trituration. La généralisation des systèmes de trituration continus a permis de traiter les olives sans délai d'attente. La conjugaison de toutes ces évolutions a conduit d'une part à des huiles d'olive vierges de grande qualité organoleptique et d'autre part à l'obtention de co-produits (margines, grignons, feuilles, bois...) de bonne qualité, ce qui permet d'orienter les recherches vers la valorisation biotechnologique de ces matières premières. Ces produits nouveaux constituent un SOS (Solid Olive Substrate) pour le traitement des margines utilisées comme substrat en biotechnologie pour la culture de champignons filamenteux en Fermentation en Milieu Solide (FMS). Quelques exemples d'applications (production de biopesticides, d'enzymes et des champignons comestibles médicinaux) seront détaillés pour démontrer le potentiel de ces matières premières pour un développement durable du secteur oléicole dans les pays Méditerranéens.

Mots clés : Grignons d'olive, margine, FMS, champignons, enzymes.

Abstract

Oleiculture and oleology have deeply progressed for these last decades. This progress has notably induced important changes in all olive chain levels. Also, in the agronomic level, olive tree culturing is directed towards biologic productions with a minimum of volumes (fertilizers and pesticides); in the technological level, harvests are mechanized and automatized enabling to reduce considerably the time between the harvest and tituration. The generalisation of continuous trituration systems has enabled to treat olives without time out. The conjugation of all these evolutions has led to virgin olive oils of a high organoleptic quality, on the one hand, and to the obtaining of co-products, in the other hand (margins, pomace, leaves, wood...) of good quality, enables to direct researches towards biotechnological valorisation of these raw materials. These new products constitute an SOS (Solid Olive Substrate) for the treatment of the margins used as substrate in biotechnology for the culturing of filamentarous fungi in fermentation in solid areas (FMS). Some application examples (biopesticides production, edible medicinal enzymes and fungi) will be detailed to demonstrate the potential of these raw materials for a sustainable development of the olive sector in the Mediterranean countries.

Key words: olive pomace, margins, FMS, fungi, enzymes.

1. Introduction: La culture de l'olivier dans les pays Méditerranéens

En l'absence de tout apport extérieur, l'exploitation d'une oliveraie se traduit par un appauvrissement progressif du sol en éléments (C, N, P, sels minéraux) nécessaires à la production des olives et à la biomasse des arbres (Therios, 2006). Une conduite intensive mais écologique et durable des oliveraies ne peut donc s'envisager qu'à la condition de rapporter au sol ces éléments sous la forme des sous-produits de l'exploitation, c'est-à-dire les déchets verts résultants de la taille et les résidus des moulins à huile qui peuvent être pâteux (margions) ou liquides/solides (margines/grignons) en fonction de la technologie utilisée pour extraire l'huile (biphasique ou triphasique).

¹Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie IMEP ; UMR CNRS/IRD-193 Case 441; FST Saint Jérôme; Université Paul Cézanne; 13397 Marseille cedex 20; France

² Université Paul Cézanne, FST de Saint Jérôme ; ISM2, AD2EM, case 451, 13397 Marseille cedex 20 ; France

E-mail. s.roussos@univ-cezanne.fr

Les résidus bruts sortant des chaînes de trituration d'olives ne peuvent cependant être retournés aux champs directement que dans des conditions précises et limitées car ils contiennent des substances phytotoxiques et antimicrobiennes (phénols, acides gras et acides organiques). Leur fort contenu en matières organiques non stabilisées et en matières minérales (N, P, K) représente de toute façon un risque de pollution pour l'environnement (Kapellakis et al., 2008). La nouvelle loi cadre française sur l'eau et les milieux aquatiques parue en 2006 afin de répondre à la directive européenne 2000/60/CE sur l'eau impose d'ailleurs à l'industrie oléicole française de développer de nouvelles voies d'élimination de ces déchets.

Dans cette présentation, les différents procédés d'extraction d'huile d'olive à une ou à deux phases seront évoqués; la nature et la quantité des produits et sous produits obtenus seront décrites; les différents procédés de conservation et de biotransformation des sous produits seront brièvement présentés. Le but de cette tâche est donc de définir dans quelles conditions opératoires des techniques telles que l'ensilage, les fermentations en milieu solide, le compostage et le lombricompostage permettent de stabiliser et détoxifier les résidus de trituration en vue de leur réincorporation sans risque dans les oliveraies. Le degré de maturation des composts et lombricompost sera déterminé avec précision afin de proposer des produits de qualité répondant à la norme et ne nécessitant ainsi aucune contrainte d'épandage.

2. La production d'olives, d'huiles d'olive et des sous produits dans le monde

La culture de l'olivier, à forte valeur culturelle et patrimoniale en région méditerranéenne, et la production d'huile d'olive, représentent environ 97% de la production mondiale (Fig. 1). Cette production s'accompagne de l'apparition de sous produits (restes de taille des oliviers, grignons et margines) peu ou pas valorisés à l'heure actuelle.

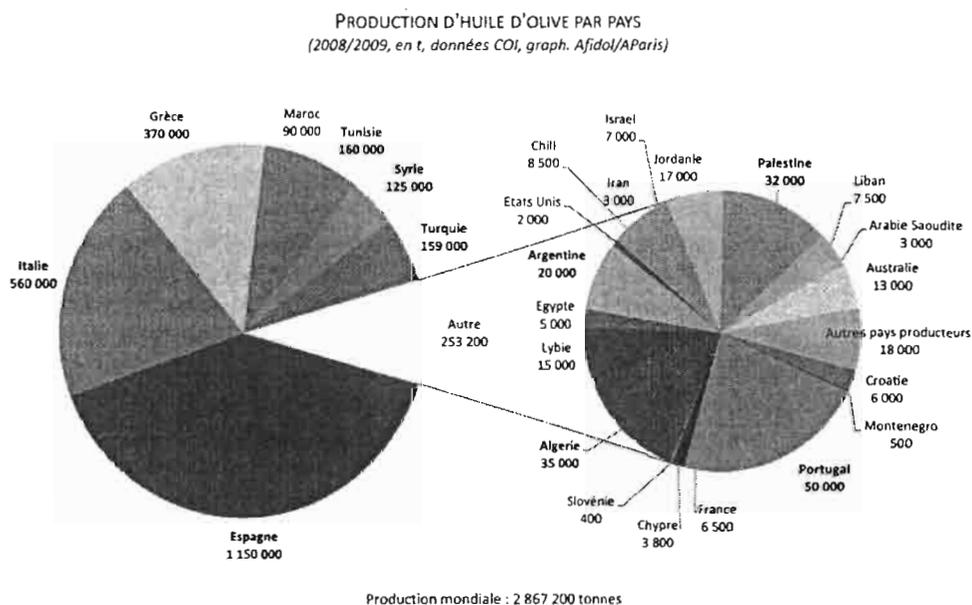


Figure 1: Production mondiale d'huile d'olive 2008/2009 (Source : AFIDOL).

3. Valorisation biotechnologique des sous produits de l'olivier pour une agriculture raisonnée

Les olives ne sont pas des fruits très riches en huile, comparées aux graines des oléagineux. Ainsi, la composition moyenne des olives est: eau 40 à 50% (eau de végétation ou margines); matières solides 25-35% (grignons); huile 20-25%. Les huiles d'olive vierges (HOV), obtenues uniquement par des moyens mécaniques, sont des systèmes chimiques complexes constitués de plus de 250 composés. Ils peuvent être classés en deux grands groupes: les substances saponifiables (de 96 à 98% de l'huile) et les substances insaponifiables (de 2 à 4% de l'huile).

Les composés phénoliques sont caractéristiques des huiles d'olives vierges et leur confèrent des propriétés particulières (stabilité oxydative, saveur...). La production d'huiles d'olive vierges nécessite un broyage des olives, suivi d'un malaxage de la pâte obtenue afin d'optimiser le rendement

d'extraction. La séparation des phases liquides (huile et margines) de la phase solide (grignons) est réalisée à l'aide de différents équipements au sein desquels la pâte d'olive est soumise à l'action de forces diverses qui, en fonction du système employé, peuvent être : la pression (système discontinu ou traditionnel) ou la force centrifuge (système continu).

Le système discontinu sépare les deux phases liquides de la phase solide. Les deux phases liquides sont ensuite séparées par décantation ou centrifugation. Le système continu se subdivise en trois modes de fonctionnement possible : (i) le mode trois phases qui permet de séparer en une seule opération les deux phases liquides de la phase solide mais qui nécessite l'ajout d'eau dans la pâte ce qui conduit à environ 120 L de margines/100 kg d'olive, (ii) le mode deux phases qui sépare l'huile des margines plus les grignons et qui généralement ne nécessite pas d'ajout d'eau. Ainsi, il est produit un grignon dit humide (contenant 60-70% d'eau) mais plus de margines, (iii) le mode deux phases et demie nécessite un ajout d'eau de 5 à 15 L d'eau/100 kg d'olives. Ce mode permet de séparer l'huile d'un grignon moins humide que précédemment (contenant 53 à 58% d'eau) et une production réduite de margines allant de 5 à 20 L/100kg d'olives. L'addition d'eau dans les procédés d'extraction centrifuge entraîne une diminution de la teneur en composés phénoliques de l'huile, une augmentation de leur teneur dans la phase aqueuse et un accroissement du volume des margines. En effet, ces composés se répartissent lors du malaxage et de la centrifugation entre les phases huileuse et aqueuse.

L'industrie oléicole mondiale, en plus de sa production principale qui est l'huile (huile d'olive vierge et huile de grignons) qui a été de 2.867.200 tonnes pour année 2008-2009, génère deux résidus : l'un liquide (les margines) et l'autre solide (les grignons). De plus, l'olivier à travers la taille (annuelle, bisannuelle, de rajeunissement, etc.) ou la récolte mécanique engendre des résidus tels que du gros bois et selon les estimations de nombreux pays, 25 kg de feuilles et brindilles (diamètre inférieur à 4 cm) sont produits par an et par arbre. Ceci se traduit par une production annuelle dans le monde d'environ 20 millions de tonnes de feuilles et brindilles fraîches qui pourraient être utilisées en alimentation animale (Nefzaoui, 1988), ou compostées sur place en les mélangeant avec des margines.

En Espagne, premier pays producteur d'huile d'olive, le système biphasique a été introduit vers les années 1970 et actuellement il y a une production de 4.000.000 de tonnes de « alperujo », un sous produit solide, composé essentiellement de lignine (31%), d'hémicellulose (24%), de cellulose (14%) de matières grasses (11%) de protéines (6%) de sucres solubles (6,5%), de phénols solubles (1,5%) et de nombreux sels minéraux étant donné que les cendres représentent 6% de matière sèche (Alburquerque et al. 2004).

Les sous-produits de l'olivier sont donc nombreux, de compositions différentes et d'utilisations très variées suivant les différents pays. Les grignons d'olive sont des sous produits solides essentiellement ligno-cellulosiques contenant la pulpe d'olive et du bois mais aussi des matières grasses, des sucres, des aminoacides, des polyphénols et des sels minéraux. La valorisation des grignons se fait dans diverses applications suivant les pays et le contexte (Tomati et Goli, 2006):

3.1. Valorisation des grignons d'olive en alimentation

Il convient avant toute alimentation de séparer les noyaux éclatés de la pulpe. En 2006, la Société Perialisi a mis au point de nouvelles machines capables de séparer à partir des grignons d'olive d'une part la pulpe d'olive et d'autre part le bois des noyaux d'olives (Digiovacchino et Prezinso, 2006). Les produits ainsi obtenus peuvent être valorisés séparément, la pulpe pour l'alimentation, les noyaux en biocombustible ou autre usage.

3.2. Valorisation biotechnologique des grignons d'olive

Les grignons d'olive ont été utilisés comme substrat pour la culture de champignons filamenteux thermophiles par fermentation en milieu solide pour la production de lipases thermostables de *Rhizopus oligosporus* (Projet PRAD 02/13). Les matières grasses résiduelles des grignons d'olive favorisent la production importante de biomasse et des enzymes comme les lipases (Ismaili-Alaoui et al. 2002).

3.3. Compostage des grignons d'olive

Les résidus solides ou pâteux générés de l'extraction de l'huile d'olive sont riches en matière organique et constituent un aliment de choix pour la croissance de microorganismes.

Le compostage est la méthode la plus utilisée pour la préparation des amendements organiques et pour la fertilisation des sols. Il permet de détoxifier ces résidus solides contenant des substances phytotoxiques et antimicrobiennes à cause de la présence de phénols, des acides gras et des acides organiques. Souvent pour le compostage efficace des grignons on y ajoute des déchets végétaux ou des déchets urbains. Il existe deux sortes de compost obtenus avec un mélange de déchets de l'olivier (Feuilles oliviers + biomasse de taille d'olivier + margines + grignons d'olive) ou d'un mélange de déchets urbains verts + Pailles de céréales + pailles de céréales + déchets de l'olivier). L'AFIDOL (Association Française Interprofessionnelle de l'Olive) a déjà expérimenté en France des compostages à grande échelle avec succès (Tableau 1).

Tableau 1: Composition moyenne des mélanges pour le compostage à grande échelle des sous produits liquides et solides de l'industrie oléicole.

Caractéristiques	Mélange 1	Mélange 2	Mélange 3
Composition	• 9 tonnes (9m ³) de grignons humides issus d'un décanteur à 2 phases • 9,5 tonnes (30m ³) de déchets verts broyés	• 9,9 tonnes (9,9 m ³) de grignons humides issus d'un décanteur à 2 phases 10,2 tonnes (28 m ³) de déchets verts broyés 40 kg d'urée à 46%	12,8 tonnes (13,5 m ³) de grignons humides issus d'un décanteur à 3 phases 10,2 tonnes (28m ³) de déchets verts broyés 6 m ³ de margines issues moulin à 3 phases
Densité	0 ;50	0,55	0,62
Teneur en eau des mélanges	49%	49%	56%

Source AFIDOL

La Durée approximative du compostage est compris entre 6 à 8 mois, voire davantage pour un compost plus mûr. Par contre pour la réussite d'un compostage, il est impératif de travailler avec des teneurs en eau faibles pour les différents mélanges, d'où l'intérêt d'ajouter de déchets verts broyés.

3.4. Ensilage et lombricompostage des grignons d'olive

Une recherche sur *ISI web of knowledge* montre que plusieurs articles ont été publiés tant sur l'ensilage que le lombri-compostage des résidus de trituration des olives. Il en est de même pour la filtration des margines sur membrane. Ces modes prometteurs de détoxification et de valorisation des sous-produits de l'industrie oléicole sont donc pratiquement vierges et les conditions optimales de leur mise en œuvre ainsi que leur viabilité restent à définir.

Les quelques essais d'ensilage réalisés jusqu'ici n'ont porté que sur les grignons et avaient exclusivement pour but la production d'aliment pour le bétail (Weinberg et al., 2008) sans entrevoir la possibilité d'utiliser les produits ensilés à d'autres fins comme, par exemple, en tant que substrat pour la culture de champignons.

Les résultats disponibles dans la littérature sur le lombri-compostage aboutissent à la conclusion qu'il n'est envisageable que sur le résidu solide généré lors de la récupération au moyen de solvants de l'huile résiduelle présente dans les grignons et les margines préalablement séchés (Moreno et al., 2000). Les autres sous-produits de trituration (grignons, margines, margions) ne permettraient pas par contre pour des raisons de toxicité un développement optimal des vers de terre, du moins dans leur état brut. Rien ne permet cependant de présager d'un échec du lombri-compostage sur ces produits après un prétraitement comme l'ensilage ou après mélange à d'autres résidus agricoles.

Plus récemment, la société Cabries-lombricompostage, a utilisé avec succès, les grignons d'olive pour l'élevage de vers de terre (<http://desbois-lombriculture.info/1.html>). Les essais de co-compostage et de lombricompostage des sous-produits seront conduits selon la technique classique des andains retournés. Des andains expérimentaux (hauteur 1,50 m x largeur 4 m x longueur 30 m) ont été utilisés pour tester les meilleures proportions entre sous-produits des moulins et pailles de céréales compostés. Dans un second temps, des andains pilotes de plus grande taille (50 m de longueur) seront mis en place.

3.5. Conservation par ensilage

L'ensilage des résidus saisonniers de l'industrie oléicole, permet d'envisager une utilisation annuelle pour diverses valorisations tels que la lombriculture, la production de champignons supérieurs ou encore alimentation animale. L'ajout de bactéries lactiques endogènes sélectionnées permettra d'obtenir des ensilages contrôlés (Perraud-Gaime et al. 2009).

4. Les margines

Comprennent deux fractions, l'une insoluble (matière organique 64,6%) est essentiellement constituée de pulpes d'olives, l'autre soluble et contient les sucres (12%), les lipides (4,2%), les sels minéraux (7,2%) et les composés phénoliques (2,2%). Des études de toxicité et de biodégradabilité de ces margines ont montré que la toxicité est due à la fraction soluble et que les composés phénoliques de type anthocyanes et monomères aromatiques sont très toxiques mais biodégradables. Par contre, les composés phénoliques responsables de la coloration noire sont peu toxiques et très difficilement biodégradables (Hamdi, 1991). Pour des quantités importantes, le compostage des margines est la manière la plus simple pour les recycler et consiste à les mélanger avec des substrats agricoles solides (Paredes et al. 1999 ; Paredes et al. 2002). Cependant la tendance actuelle vise à récupérer d'abord des molécules antioxydantes comme l'hydroxytyrosol, avant d'orienter les margines vers le compostage ou le traitement d'épuration de l'eau (Fki et al. 2005). Les margines sont utilisées en épandage comme fertilisant, et elles servent surtout à d'autres procédés biotechnologiques (extraction de composés aromatiques et phénoliques). Elles interviennent également dans la fabrication de compost pour la production de champignons (Paredes et al. 2005 ; Olivieri et al. 2006 ; D'Annibale et al. 2004).

5. Description du SOS ou COS

Un mélange de coproduits d'olivier (grignons d'olives, bois de la taille, margines) a été mis au point pour fabriquer le COS (Coproduits de l'Olivier Solides) et l'utiliser à la fois comme substrat et support solide, pour la culture des microorganismes par Fermentation en Milieu Solide, en particulier des champignons filamenteux entomopathogènes, nématophages pour la production de biopesticides ou pour la culture du mycélium de champignons comestibles et médicinaux comme le Shiitake (Lakhtar 2009).

5.1. Production de lipases

Des grignons d'olive mélangés avec de la bagasse de canne à sucre ont été utilisés pour la croissance de champignons filamenteux thermophiles pour la production de lipases thermostables (> 80°C). La technique de Fermentation en Milieu Solide s'avère plus adaptée pour la croissance des champignons thermophiles que la culture liquide, la production de lipases est plus élevée (10 à 20 fois) et ces enzymes sont extracellulaires. La présence dans les grignons d'olive d'acide oléique, utilisé comme inducteur, augmente la production de lipases en FMS (8 fois). L'addition à la bagasse de canne à sucre, de grignons d'olive augmente la production de lipases (26 fois). Ces enzymes sont stables pendant la culture (Cordova et al. 1998).

5.2. Production de biopesticides

Les grignons d'olive mélangés à d'autre déchets agroindustriels (margines, feuilles d'olivier, autres substrats lignocellulosiques) constituent un excellent substrat solide pour réaliser des cultures de champignons filamenteux entomopathogènes ou nématophages (Hassouni 2007). Dans la mesure où des conditions optimales de culture sont obtenues pour chaque microorganisme, le produit fermenté obtenu, enrichi en mycélium de ce type de champignon, pourrait s'avérer, après retour au champ, être un excellent agent pour une lutte biologique contre certains des agresseurs de l'olivier. Les procédés les plus prometteurs sont validés à une échelle pré-industrielle.

5.3. Production de champignons comestibles médicinaux

Une étude récente réalisée dans notre laboratoire vise à la détermination d'une formule originale d'un mélange (20/30/50) pour la préparation des différents composants des coproduits de l'industrie oléicole (bois d'olivier, grignons d'olive et des margines d'olives) afin de réaliser des cultures des

champignons comestibles et médicinaux sur un Substrat Oléicole Solide (SOS) par fermentation en milieu solide (Lakhtar 2009). Cette culture permet d'assurer d'une part la production de la biomasse fongique pour l'alimentation humaine et d'autre part la détoxification des coproduits (marginés) pour servir à l'alimentation animale. La saisonnalité de substrats d'oliviers (les grignons d'olives et les marginés) a été remédiée par le séchage solaire sous serre, une étude qui sera présentée en détaille dans une autre présentation (Lakhtar et al. 2010). Un test de criblage des souches de *Lentinula edodes* (champignons comestible et médicinal, connu sous le nom de Shiitake) a été effectué afin d'obtenir une souche efficace et capable de dégrader les polyphénols dans les marginés. La préparation d'inoculum de la souche sélectionnée a été optimisée par l'induction du mycélium à la production des laccases. Les conditions de culture du champignon ont été optimisées et la cinétique de croissance de shiitake sur le mélange ainsi que la transformation de la matière organique ont été étudiées.

6. Conclusion de l'existant et du potentiel

On peut dire que l'olivier par son huile d'olive, est une source de produits alimentaires et cosmétiques, par ses grignons une source alimentaire pour le bétail, mais aussi une source de carbone et d'énergie par ses résidus et ses tailles, pouvant servir de substrat pour la croissance de microorganismes dans les procédés biotechnologiques, en particulier pour la production de biopesticides (champignons filamenteux entomopathogènes, nématophages ou des antagonistes de phytopathogènes). Ainsi, ces actions s'inscrivent dans une politique de développement durable et devraient pouvoir être généralisées à divers sous-produits ligno-cellulosiques, Roussos et al. (2006). Les moulins ont tout intérêt à valoriser ces sous-produits de façon d'une part à obtenir des coproduits ayant une valeur marchande et d'autre part ne pas devoir payer la redevance de l'Agence de l'Eau. On rappelle que suivant les rejets, l'Agence de l'Eau peut percevoir une redevance (principe pollueur –payeur) pouvant atteindre environ 300 €/par tonne d'huile d'olive. Parmi les pays producteurs d'huile d'olive, l'Espagne et la Tunisie sont les pays pionniers quand à la valorisation industrielles des sous produits solides et liquides de l'industrie oléicole. L'Italie, est le seul pays européen ayant développé une législation lui permettant d'utiliser l'épandage des marginés dans les champs d'oliviers, sous des conditions bien réglementées. En conclusion, les sous produits de l'olivier représentent des tonnages plus importants que l'huile d'olive, leur composition les destine à une multitude d'usages, en particulier comme matière première dans les procédés biotechnologiques et dans l'avenir, ils vont jouer un rôle primordial pour un développement durable du secteur oléicole dans les pays Méditerranéens ; il est donc important de les considérer comme des matières premières au même titre que l'huile.

Références

- Albuquerque JA, Gonzalez J, Garcia D, Cegarra J. 2004. Agrochemical characterization of « alpurejo », a solid by-product of two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource Technol.* 91 :195-200.
- Aloui F., Abid N., Roussos S., Sayadi S. 2007. Decolorization of semisolid olive residus of "alperujo" during the solid state fermentation by *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Pycnoporus cinnabarinus* and *Aspergillus niger*. *Biochem. Eng. J.* 35:120-125.
- Digiovacchino L., Prezioso S. 2006. Utilization of olive mill by-products In Caruso T, Motisi A, Sebastiani L (Eds) Recent advances in olive industry. *Biotechnology and Quality in Olive (Olivebioteq-2006, Marsala)* pp 379-389.
- Chiofalo B., Liotta L., Zumbo A., Chiofalo V. 2004. Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Ruminant Research*, 55: 169-176.
- Cordova J., Nemmaoui M., Ismaïli-Alaoui M., Morin A., Roussos S., Raimbault M., Benjilali B. 1998. Lipase production by solid state fermentation of olive cake and sugar cane bagasse. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 5: 75-78.
- D'Annibale A., Casa R., Pieruccetti F., Ricci M., Marabottini R. 2004. *Lentinula edodes* removes phenols from olive-mill wastewater: impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germinability. *Chemosphere*, 54: 887-894.
- El Hajjouji H., Ait Baddi G., Yaacoubi A., Hamdi H., Winterton P., Revel J.C., Hafidi M. 2008. Optimisation of biodegradation conditions for the treatment of olive mill wastewater. *Bioresource Technology*, 99: 5505-5510.

- Elisashvili V., Penninckx M., Kachlishvili E., Tsiklauri N., Metreveli E., Kharziani T., Kvesitadze G. 2008. *Lentinus edodes* and *Pleurotus* species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of different composition. *Bioresource Technology*, 99: 457-462.
- Fki I, Allouche N., Sayadi S. 2005. The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 93: 197-204.
- Hamdi M. 1991. Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des margines, effluents liquides de l'extraction de l'huile d'olive. Thèse de doctorat, Université de Provence, 180 pp.
- Hassouni H. 2007. Physiologie de la sporulation des champignons filamenteux pour la production de spores et d'enzymes en fermentation en milieu solide. Thèse de doctorat es sciences agronomiques, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, 168 pp.
- Ismaili-Alaoui M., Kamal M., Kademi A., Morin A., Roussos S., Houde A. 2002. Valorization of moroccan olive cake using solid state fermentation. In *New Horizons in Biotechnology*, Roussos S., Socol C.R., Pandey A., Augur C. (Eds). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, chapter 4 : 35-41.
- Ismaili-Alaoui M., Heddoun A. 2006. Tentative de modernisation des Maâsra traditionnelles. Unité mobile d'extraction des huiles d'olives. In : Ismaili-Alaoui, M., Roussos, S., Perraud-Gaime, I., (Eds.), *Biotechnology and quality of Olive tree products around the Mediterranean basin*, Actes Editions, Rabat, pp. 243-258.
- Kapellakis I.E., Tsagarakis K.P., Crowther J.C. 2008. Olive oil history, production and by-products management. *Rev. Environ.Sci.Biotechnol.* 7 :1-26.
- Lakhtar H. 2009. Culture du *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler sur résidus oléicoles en fermentation en milieu solide : Transformation des polyphénols des margines. Thèse de doctorat, Université Paul Cézanne, 170 pp.
- Lakhtar H., Ismaili-Alaoui M., Philippoussis A., Perraud Gaime I., Roussos S. 2010a. Screening of *Lentinula edodes* strains cultivated on model olive mill wastewater in solid and liquid state culture for polyphenols biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64 : 167-172.
- Molina-Alcaide E. 2008. Effect of different drying procedures on the nutritive value of olive (*Olea europaea* var. *europaea*) leaves for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 142: 317-329.
- Moreno R., Benitez E., Melgar R., Polo A., Gomez M., Nogales R. 2000. Vermicomposting as alternative for reusing by-products from the olive oil industry. *Fresenius Environ. Bull.*9: 1-8.
- Nefzaoui A. 1988. Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. In *l'Economie de l'Olivier*. Allaya M. (Ed.) Options Méditerranéennes, Série Etudes, CCE (DGI)/ CIHEAM ; pp 153-173.
- Olivieri G., Marzocchella A., Salatino P., Giardina P., Cennamo G., Sannia G. 2006. Olive mill wastewater remediation by means of *Pleurotus ostreatus*. *Biochemical Engineering Journal*, 31: 180-187.
- Paredes C., Cegarra J., Roig A., Sanchez-Monedero M.A., Bernal M.P. 1999. Characterization of olive mill wastewater (alpechin) and its sludge for agricultural purposes. *Bioresource Technol.* 67 : 11-115.
- Paredes C., Bernal M.P., Cegarra J., Roig A. 2002. Bio-degradation of olive mill wastewater sludge by its co-composting with agricultural wastes. *Bioresource Technology* 85: 1-8.
- Paredes C., Cegarra J., Bernal, M.P., Roig A. 2005. Influence of olive mill wastewater in composting and impact of the compost on a Swiss chard crop and soil properties. *Environment International*, 31: 305-312.
- Perraud-Gaime I., Labrousse, S. Roussos S. 2010. Conservation des résidus de l'agro-industrie oléicole par ensilage : de l'isolement de bactéries lactiques endogènes à l'étude de faisabilité. In Karray B., Kecharem J. Roussos S. (Eds) *Actes Olivebioteq-2009*, Sfax, Tunisia
- Philippoussis A., Zervakis G., Diamantopoulou P. 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17: 191-200.

Roussos S., Rohard C., Augur C., Perraud-Gaime I., Macarie H., Le Verge S. 2006. The olive industry in France. In Recent advances in olive industry. Caruso T, Motisi A, Sebastiani L (Eds), Biotechnology and Quality in Olive (Olivebioteq-2006, Marsala) p141-150.

Therios I. 2006. Mineral nutrition of olive trees. In : Olivebioteq-2006, recent advances in olive industry , Special Seminars and Invited Lectures, Caruso T., Motise A., Sebastiani L. (Eds), November 5-6 Mazara del Vallo, Italy, pp:403-410.

Tomati U., Galli E. 2006. A common policy to face the problem of olive oil mill wastes. In Biotechnology and quality of olive tree products around the Mediterranean basin. Ismaili-Aloui M, Roussos S, Perraud-Gaime I (eds), Actes Editions, Rabat : 375-382.

Weinberg Z.G., Chen Y., Weinberg P. 2008. Ensiling olive cake with and without molasses for ruminant feeding. *Biores.Technol.* 99:1526-1529.

Roussos Sevastianos, Perraud-Gaime Isabelle, Lakhar H.,
Aouidi F., Labrousse Y., Belkacem N., Macarie Hervé, Artaud J.
(2009)

Valorisation biotechnologique des sous produits de l'olivier
par fermentation en milieu solide

In : Karray B. (ed.), Khecharem J. (ed.), Roussos Sevastianos
(ed.). Pour un secteur oléicole rénové, rentable et compétitif
en Méditerranée = For a renovated, profitable and
competitive Mediterranean olive growing sector :
proceedings Olivebioteq 2009. Sfax : Institut de l'Olivier, 293-
300.

Séminaire Olivebioteq 2009 : Pour un Secteur Oléicole
Rénové, Rentable et Compétitif en Méditerranée = Seminar
Olivebioteq 2009 : For a renovated, Profitable and
Competitive Mediterranean Olive Growing Sector, 3.,
Sfax (TUN), 2009/12/15-19. ISBN 978-9938-9513-0-1