



OPTION SCIENCE ET MUSIQUE
OPTION PERCEPTION ET DESIGN SONORE
~
RAPPORT DE PROJET

INFLUENCE DE LA MUSIQUE
SUR LES MICRO-ORGANISMES

PECHEREAU FELIX · IOVINO MATTEO

EN COLLABORATION AVEC :



École Nationale
Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation
Nantes Atlantique

Santé et alimentation au cœur de la vie

Table des matières

| | | |
|-------------------|---|-----------|
| 1 | Introduction | 1 |
| 2 | Contexte | 1 |
| 3 | Protocole de mesure de l'activité des micro-organismes | 2 |
| 3.1 | Protocole de JM Pelt [2][3] | 2 |
| 3.2 | Protocole de Niral Sarvaiya et Vijay Kothari [4] | 2 |
| 3.3 | Protocole de Shaobin Gu, Yongzhu Zhang et Ying Wu [5] | 3 |
| 3.4 | Méthode de suivi de l'activité des micro-organismes | 4 |
| 4 | Mesures acoustiques | 6 |
| 5 | Génération des sons | 10 |
| 6 | Expérimentation Oniris | 11 |
| 6.1 | Protocole | 11 |
| 6.2 | Matériel | 12 |
| 7 | Résultats | 14 |
| 7.1 | Pour les bactéries lactiques | 14 |
| 7.2 | Pour les levures | 14 |
| 8 | Conclusion et perspectives | 15 |
| 8.1 | Pour les bactéries | 15 |
| 8.2 | Pour les levures | 15 |
| Références | | I |
| Annexes | | II |
| A | Code Matlab | II |
| A.1 | Transformée de Fourier | II |
| A.2 | Génération du son par la méthode de synthèse additive | II |
| A.3 | Fonction auxiliaire pour la synthèse additive | III |
| A.4 | Fonction auxiliaire pour créer une enveloppe | III |
| A.5 | Filtrage d'un album de musique | IV |

Table des figures

| | | |
|----|--|----|
| 1 | Protocole expérimental. | 2 |
| 2 | Résultats statistiques. | 4 |
| 3 | Récipient en verre contenant le mélange levures - jus de pomme avec capteur de pression. | 4 |
| 4 | Diagramme de Bode pour un filtre PB d'ordre 1. | 6 |
| 5 | Schéma du protocole expérimental. | 7 |
| 5 | Équipements pour les mesures des fonctions de transfert. | 8 |
| 6 | Fonctions de transfert du récipient en inox. | 8 |
| 7 | Fonctions de transfert du récipient en verre. | 9 |
| 8 | Réponse en fréquence du filtre FIR. | 10 |
| 9 | Transformée de Fourier d'une chanson filtrée avec filtre passe bande. | 11 |
| 10 | Protocole expérimental pour le test sur les micro-organismes. | 11 |
| 11 | Haut parleur destiné à l'étuve. | 12 |
| 12 | Protocole expérimental. | 12 |
| 13 | Mise en place de l'expérience des bactéries. | 13 |
| 14 | Ordinateur destiné à la mesure des sondes pH. | 13 |
| 15 | Expérience du 6 Mars. | 14 |
| 16 | Expérience du 14 Mars. | 15 |

1 Introduction

Dans le cadre de notre option professionnelle, nous sommes amenés à mettre en place un projet de design sonore en partenariat avec une équipe d'élève d'Oniris. La problématique est de mettre en évidence l'influence du son sur le développement des micro-organismes. Nous attendons donc de ce projet de vérifier la véracité de certains articles scientifiques affirmant cette influence et de réussir à reproduire certains résultats documentés.

Se soulèvent donc ici plusieurs interrogations pour cette double équipe que nous formons, notamment sur le choix des micro-organismes à tester, mais également le protocole expérimental complet.

2 Contexte

Historiquement, les hommes ont toujours cru à l'existence d'un lien entre la musique et les plantes. Que ce lien soit purement mystique comme la croyance indienne qui veut que le dieu Krishna faisait jouer de la musique dans ses jardins afin que la végétation deviennent de plus en plus luxuriante, ou plus scientifiquement démontrée comme l'ont démontré de très nombreux travaux de chercheurs contemporains.

On commence tout d'abord par le Dr. Singh¹ [1]. Ce botaniste réalisa dès les années 60 une série d'expérience sur des plantes à fleur et constata une croissance accélérée sur celles au contact de la musique. Il se lança même dans des expériences à grande échelle sur des champs entiers. Un résultat essentiel est l'augmentation des récoltes et une meilleure robustesse des plants.

De 1990 à 1994, Jean-Marie Pelt, professeur émérite de biologie végétale et de pharmacologie à l'université de Metz, se lança dans une longue série d'expériences [2]. Avec son équipe il choisit de regarder l'influence de la musique sur 9 espèces de plantes différentes, comme la lentille, le petit pois, le haricot astrel et le haricot Calypso. Ils tentent au maximum d'isoler la variable "musique" parmi le grand nombre de paramètres à leur disposition. Ils commencent notamment par cloner les graines afin de limiter au maximum la variabilité génétique. Sept des neuf échantillons ont vu leur croissance accélérée par la musique. Chaque espèce a eu une réaction différente, comme le haricot Calypso (plante grimpante) qui s'est dirigé vers la source sonore. Toutefois JM Pelt n'a pas pu conclure sur la question des goûts musicaux pour les plantes, les écarts statistiques étant trop faibles.

En 2014, Niral Sarvaiya and Vijay Kothari se sont attachés à vérifier l'influence de la musique sur différents micro organismes [4], levures et bactéries, qui font partie de celles étudiées par notre équipe. Il est important de noter que ce groupe a décidé d'utiliser une bande allant de 38 à 689 Hz de musique indienne traditionnelle (Raag Kirwani) en guise de stimuli sonore. Nous détaillerons plus en avant leur protocole expérimental. Leur résultats montrent également une augmentation significative de leur taux de croissance respectifs.

En 2015, des scientifiques chinois s'intéressent à l'influence du son sur la croissance de la bactérie E. Coli [5]. Ils ont noté une croissance accélérée de la biomasse pouvant aller jusqu'à 86% supérieure au témoin.

De manière plus théorique, Joël Sternheimer [7] établit à la même période le lien entre physique quantique et biologie moléculaire. Il a mis en évidence que lors de la synthèse d'une protéine, une succession de signaux sonores était émise. Cette onde sonore ainsi formée est caractéristique d'une protéine en particulier, et lorsque les plantes y sont soumises, ces ondes acoustiques sont transformées par la plante en ondes électromagnétiques qui se met à produire la protéine spécifique à cette mélodie.

Aujourd'hui, ce phénomène de synthèse de protéines par le biais de la musique s'appelle la "Génodique". La société "Genodics" [6] voit le jour en 2008. Celle-ci commercialise un appareil de diffusion des "protéodies", ces symphonies pour une ou plusieurs protéines. Cette entreprise profite d'une certaine notoriété du et présente des résultats satisfaisants pour leurs clients. Il faut cependant différencier le discours commercial du discours scientifique, et le contact entre Genodics et Oniris n'a pas permis d'obtenir d'informations concrètes pour la suite de nos expériences.

1. Pas de jeude mot ici

3 Protocole de mesure de l'activité des micro-organismes

Nous orientons nos recherches bibliographiques sur le design des protocoles en se basant sur les travaux de JM Pelt, Niral Sarvaiya et Vijay Kothari ainsi que Shaobin Gu, Yongzhu Zhang et Ying Wu.

3.1 Protocole de JM Pelt [2][3]

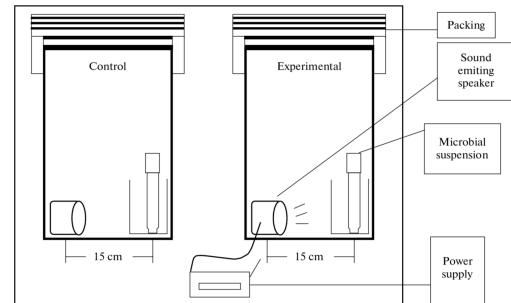
Il sépare 9 espèces clonées dans 2 box, l'un sonifié 12h par jour et l'autre non pour réaliser un témoin. Sur les neuf échantillons, sept ont vu leur croissance accélérée par la musique, et les résultats étaient statistiquement significatifs, ce qui permet d'affirmer que les plantes sont effectivement sensibles à la musique. Ces travaux ont conclu que la nature des sons et des intensités sonores qui produisent la croissance la plus marquée sur des plantules de blé d'hiver est **une sinusoïde pure à 5 kHz pour une intensité sonore de 90 dB SPL**. Au delà de 105 dB, l'effet inverse est observé.

3.2 Protocole de Niral Sarvaiya et Vijay Kothari [4]

Leur objectif était de tester l'effet d'un type de musique classique indienne (Raag Kirwani) contenant un son correspondant aux fréquences dans l'intervalle [38 ; 689] Hz, sur la croissance microbiologique, sur la production des certains métabolites importants et sur la susceptibilité antibiotique. Toutes les bactéries et levures utilisées pour les tests ont vu leur croissance accélérée (de 3,15% à 40,37% plus élevé que les témoins) sous l'influence de la musique.

Trois échantillons de l'organisme à tester (Figure 1a) sont prélevés depuis leur culture active. Chacun est préparé dans une solution stérile, normale et saline, puis standardisé à une turbidité standard de 0.5 McFarland. Ils sont ensuite placés dans une enceinte vitrée (Merck, 225 × 225 × 125 cm). Une enceinte sonore a été placée dans ce récipient à une distance de 15 cm des tubes (Figure 1b). Le son est envoyé pendant toute la durée de l'incubation. Le récipient est refermé avec un couvercle en verre et recouvert de couches de vêtements et de papier en guise d'isolation phonique. La fréquence de la musique est mesurée par un WavePad Sound Editor Masters Edition v. 5.5, et contenue dans l'intervalle [38 ; 689] Hz. L'intensité du son a été mesurée entre 95 et 110 dB à 15 cm de l'enceinte avec un sonomètre.

| No. | Organism | MTCC code | Growth medium | Incubation temperature, °C | Incubation time, h | Parameter(s) tested |
|-----|----------------------------------|-----------|-----------------------------|----------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| 1 | <i>Chromobacterium violaceum</i> | 2656 | Nutrient broth | 35 | 24 | Growth and violacein production |
| 2 | <i>Serratia marcescens</i> | 97 | | 30 | 48 | Growth and prodigiosin production |
| 3 | <i>Staphylococcus aureus</i> | 737 | | 37 | 24 | Growth |
| 4 | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 442 | | 37 | 24 | |
| 5 | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 170 | Glucose yeast extract broth | Room temperature | 48 | Growth and alcohol production |
| 6 | <i>Candida albicans</i> | 3017 | | 35 | 24 | Growth |



(a) Organismes de test.

(b) Dispositif expérimental.

FIGURE 1 – Protocole expérimental.

Les essais qui ont été faits sont les suivants :

- estimation de la croissance et de la susceptibilité antibiotique ;
- extraction et estimation de la Violacine (un pigment violet) ;
- extraction et estimation de la Prodigiosine (un pigment rouge) ;
- estimation d'alcool ;
- évaluation de la perméabilité de la membrane extérieure en utilisant la Céphalosporine (une bactérie) ;
- estimation de calcium, potassium et protéine.

Pour ce qui concerne l'analyse statistique, dans chaque expérience ils ont sonifié trois échantillons et chaque mesure est une moyenne de ces trois échantillons \pm un écart-type. La pertinence statistique a été évaluée à travers un *t*-test réalisé sur Microsoft Excel. Les mesures avec une *p*-value inférieure à 0.05 ont été considérées statistiquement significatives.

3.3 Protocole de Shaobin Gu, Yongzhu Zhang et Ying Wu [5]

Ces trois chercheurs se sont intéressés à l'influence du son sur la bactérie E. Coli. Nous nous intéressons ici à leur protocole.

Tout d'abord la bactérie E.coli K12 est mise en milieu de culture LB pendant 24h à 37° puis agitées à 180 tr/min dans un incubateur rotatif à 37° pendant 10h.

L'appareil permettant de diffuser le son sur les échantillons est composé d'un générateur basse fréquence de laboratoire ainsi qu'un système d'amplification relié à un haut parleur. Ce dernier est placé dans une chambre dont les parois sont faites en matériau absorbeur de son, recouvert à l'extérieur par une paroi métallique afin de limiter l'influence du milieu extérieur.

Ces trois chercheurs ont fait varier les fréquences de leur stimulis (toujours des sinusoïdes pures) de 250 à 16000 Hz, en maintenant 80 dB d'intensité sonore dans leur caisson. Le son est joué en continu pendant toute la durée de l'expérience avec un agitateur magnétique fonctionnant 5 minutes toutes les 15 minutes.

Pour mesurer la croissance de la bactérie, ces chercheurs ont utilisé plusieurs méthodes :

- Mesure de la biomasse et taux de croissance spécifique moyen La biomasse est représentée par densité optique maximale à l'aide d'un spectrophotomètre. Le poids sec des bactéries est obtenu en séchant un prélèvement d'un échantillon à 70° pendant 6h, le taux de croissance spécifique moyen quand à lui est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\mu = \frac{\Delta m}{m \times \Delta t}$$

avec

- m le poids sec ;
- μ le taux de croissance spécifique ;
- Δm le poids sec supplémentaire pendant Δt .

- Mesure des protéines intracellulaires et ARN (Acide Ribonucléique) Un échantillon prélevé toutes les 6h en utilisant un Bacterial Protein Extraction Kit, et mesuré avec un Kit de mesure de protéine BCA modifié. L'ARN total est extrait avec un HiPure Bacterial RNA Kit et quantifié par spectrophotométrie.
- Observation morphologique. Avec un stimuli à 8 kHz et une intensité de 80 dB puis 100 dB, les cellules ont été mesurées au bout de 48h, centrifugées, lavées à l'eau distillée, déshydratées en utilisant de l'éthanol puis diluées dans de l'eau distillées. Les échantillons ont ensuite été séchés dans un évaporateur à vide puis observés avec un microscope à balayage électronique. Au total 100 cellules choisies aléatoirement ont été mesurées et leur taille moyenne a été calculée.

Vient ensuite l'analyse statistique, chaque expérience a été réalisée en diffusant du son directement sur 3 éprouvettes, et les mesures sont présentées comme étant la moyenne de ces trois échantillons \pm l'écart type. L'analyse statistique réalisée par la suite est une ANOVA, les résultats sont considérés significatifs si la P-value est inférieure à 0.05.

Leur résultats sont significatifs et permettent de conclure quant à l'influence du son sur la croissance des bactéries.

Les graphes de Figure 2 montrent que c'est une fréquence de 8kHz pour une intensité sonore de 80 dB qui se révèle le plus efficace, avec en plus une p-value inférieure à 0,001. En ordonnée à gauche est représentée la densité optique et à droite le taux de croissance spécifique moyen, en abscisse on trouve la fréquence (Figure 2a) et l'intensité (Figure 2b). Les cercles représentent la biomasse mesurée par densité optique, et les carrés représentent le taux de croissance spécifique.

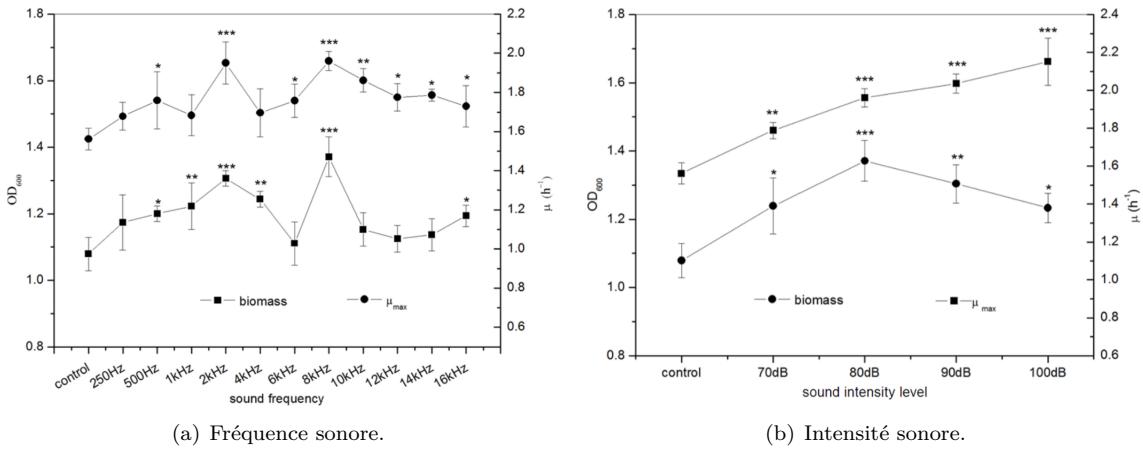


FIGURE 2 – Résultats statistiques.

3.4 Méthode de suivi de l'activité des micro-organismes

En conclusion, ces divers articles nous donnent un aperçu clair de l'influence des sons sur les micro-organismes. Pour la mise en oeuvre de l'expérience, nous allons devoir composer avec des contraintes différentes d'organisation qui ne permettent pas la mise en place de mesures aussi rigoureuses et nombreuses que vues précédemment. En effet, nous ne disposons que de créneaux d'une journée voire une demi journée et ne pouvons donc réaliser de tests sur plus de 8h au maximum. De plus, comme nous le verrons par la suite, isoler le paramètre "musique" est très délicat surtout en comparaison avec l'influence de la température.

C'est pour cela que nos collègues d'Oniris ont fait le choix de tester l'influence du son sur une levure (*Saccharomyces cerevisiae*) et deux bactéries qui sont celles présentes dans le yaourt : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* car ces micro-organismes sont faciles à trouver dans le commerce et la mesure de leur développement est relativement simple à mettre en œuvre :

- La levure se trouve facilement en boulangerie, en la mettant dans du jus de pomme elle va se développer en consommant le sucre et le dioxygène présent dans le flacon, produisant ainsi du CO₂. De manière indirecte on mesure donc la croissance des levures. Les tests sont réalisés dans des flacons en verre épais ou en inox avec un capteur de pression au dessus (Figure 3). Ce protocole permet de tracer une courbe continue de la croissance des levures.



FIGURE 3 – Récipient en verre contenant le mélange levures - jus de pomme avec capteur de pression.

Le choix de ce type de mesure constraint donc le côté acoustique de l'expérience, et nous devrons composer avec pour la suite de nos expériences. On peut aussi mettre en place le comptage sur Malassez Les levures sont dénombrées au microscope grâce à une lame spéciale appelée "cellule de comptage".

- Les bactéries lactiques se trouvent dans n'importe quel yaourt, lait ou crème, elles acidifient le milieu dans lequel elles se trouvent lors de leur croissance en produisant de l'acide lactique. Ce sera donc un suivi pH en continu qui permettra de suivre le développement des bactéries. Elles doivent être maintenues à 43° pendant la durée de l'expérience et à l'air libre.

4 Mesures acoustiques

Après cette partie bibliographique et les informations apportées par nos collègues sur la façon de mesurer la croissance des micro-organismes, nous voyons immédiatement que l'on doit diffuser le son à l'extérieur des flacons. Nous nous posons la question suivante : qu'est-ce qu'on "entend" dans le flacon en verre, et le récipient en inox ?

Pour répondre à cette question, nous devons déterminer la fonction de transfert entre l'air dans lequel nous envoyons le stimuli sonore, et l'air dans le flacon qui sera soumis à l'excitation sonore filtrée par les parois du récipient.

L'amplitude de la fonction de transfert donne des indications importantes sur l'atténuation sonore qui caractérise le matériel et sur sa fréquence de résonance. Les parois d'un récipient sont caractérisées par fonction de transfert de type passe bas :

- les fréquences inférieures à la fréquence de résonance du matériel sont atténuerées d'une quantité constante, c'est la "bande passante" ;
- les fréquences supérieures à la fréquence de résonance du matériel sont soumises à une pente d'atténuation décroissante, multiple de 20 dB/dec, selon l'ordre du pôle correspondant à la fréquence de résonance (en Figure 4 le diagramme de Bode pour un filtre PB d'ordre 1).

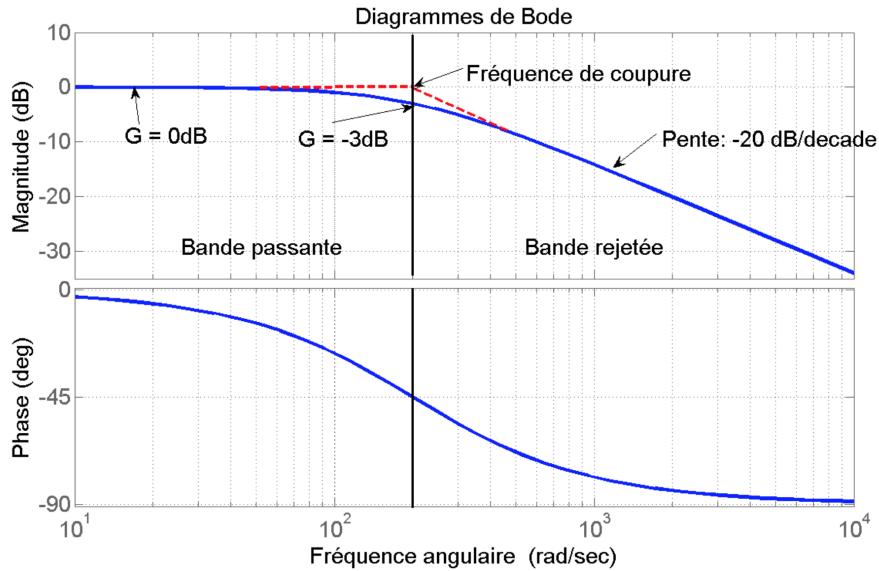


FIGURE 4 – Diagramme de Bode pour un filtre PB d'ordre 1.

L'expérience de détermination de la fonction de transfert s'est déroulée dans une salle insonorisée à l'LS2N dans les locaux de l'Ecole Centrale.

Le matériel utilisé est le suivant :

- une enceinte sonore (Figure 5a) ;
- un sonomètre (Figure 5c) ;
- un microphone (Figure 5a) ;
- un préamplificateur (Figure 5f) ;
- deux ordinateurs munis d'AudaCity (Figure 5g) ;
- les récipients à tester, notamment un en inox et l'autre en verre épais (Figure 5d et 5e).

Le premier ordinateur génère le son à travers AudaCity et l'envoie à l'enceinte sonore qui transmet le son dans la salle à l'air libre. Le sonomètre, responsable de l'étalonnage, mesure l'intensité sonore en termes de dBA : il assure la répétabilité de l'expérience. Le microphone acquiert le son, à la fois à l'air libre et dans les récipients, et envoie l'enregistrement à un préamplificateur connecté à la carte son du deuxième ordinateur.

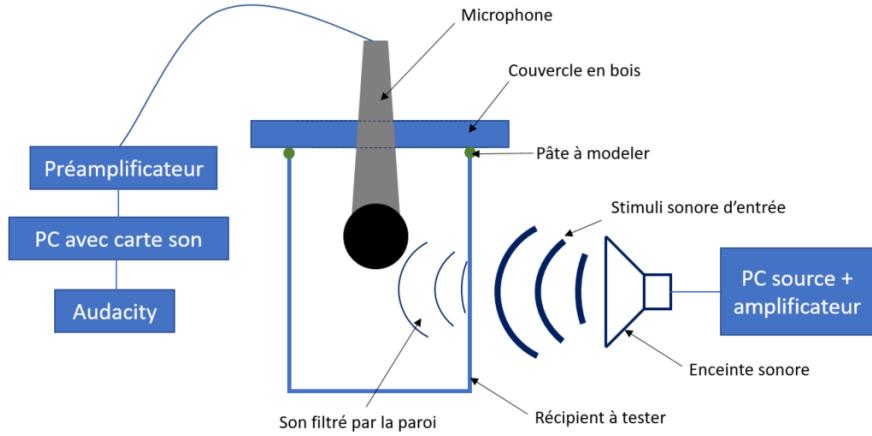


FIGURE 5 – Schéma du protocole expérimental.

Le protocole expérimental est le suivant (schéma en Figure 5) :

- Génération d'un bruit blanc et d'un bruit rose d'amplitude relative 0.8 (pour éviter la saturation). Le bruit blanc a été choisi parce qu'il contient en proportion égale toutes les fréquences tandis que le bruit rose est plus riche en basses fréquences.
- Étalonnage du dispositif avec le sonomètre, le son est joué dans l'air et nous fournit l'intensité sonore absolue (Audacity ne fournit que le coefficient d'atténuation). Nous diffusons le bruit blanc à une intensité de 74,8 dBA, et le bruit rose à une intensité de 66,4 dBA (Figure 5b et 5c).
- Enregistrement du témoin, le son est joué à l'air libre et enregistré grâce au micro (Figure 5a).
- Positionnement des récipients en face de l'enceinte. Un boudin de pâte à modeler fait office de joint entre le couvercle en bois et le récipient (en bleu sur la Figure 5d).
- Enregistrements multiples et obtention des sonogrammes (Figure 5g). Chaque bruit blanc est de la durée d'une minute.
- Calcul des transformées de Fourier en utilisant le code MATLAB en Annexe (A.1). Rapport de la transformée du son dans l'air et dans le récipient en appliquant la formule suivante (avec $\mathcal{F}(\cdot)$ la transformée de Fourier) :

$$\text{fonction de transfert} = \frac{|\mathcal{F}(\text{son filtré})|}{|\mathcal{F}(\text{stimuli sonore d'entrée})|} \quad (1)$$



(a) Enceinte et microphone.



(b)



(c) Sonomètre.



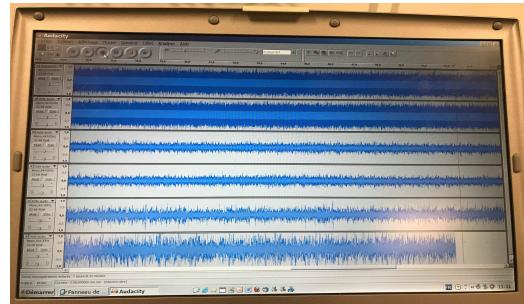
(d) Mesure pour le récipient en verre.



(e) Mesure pour le récipient en inox.



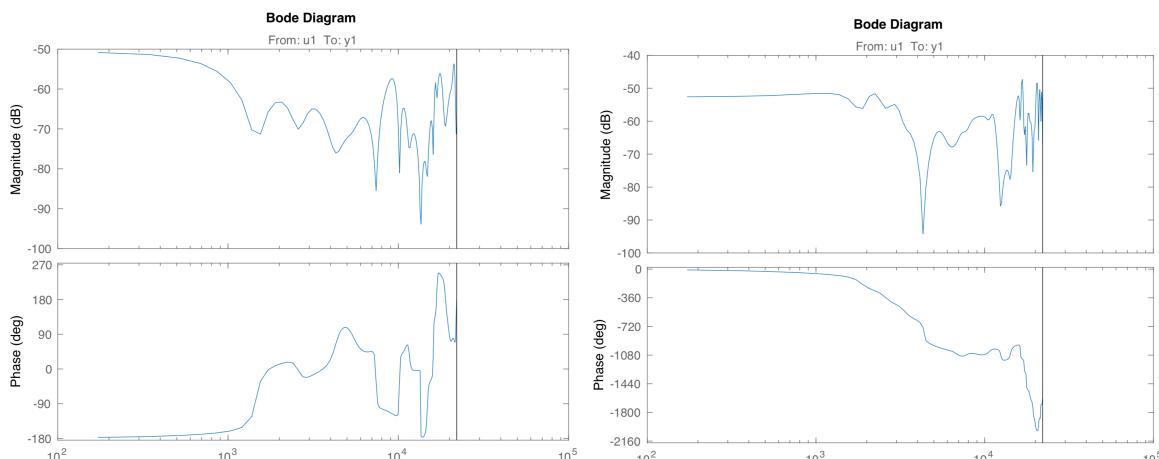
(f) Préamplificateur.



(g) Ordinateur avec Audacity.

FIGURE 5 – Équipements pour les mesures des fonctions de transfert.

Les fonctions de transfert qui ont été obtenues après une analyse numérique sous MATLAB sont remportés ci dessous (Figures 6 et 7). Le son en entrée n'étant pas phasé, il n'est pas pertinent d'interpréter la phase de ces diagrammes de Bode.



(h) Bruit blanc.

(i) Bruit rose.

FIGURE 6 – Fonctions de transfert du récipient en inox.

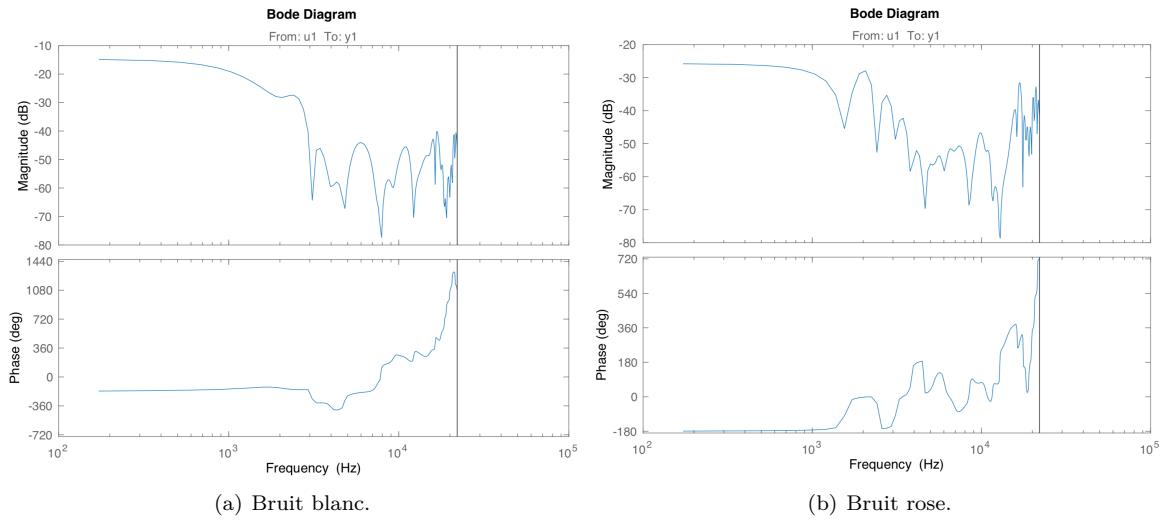


FIGURE 7 – Fonctions de transfert du récipient en verre.

Nous voyons très nettement que l'inox atténue énormément le son de l'extérieur. En effet l'atténuation constante dans la bande passante est de l'ordre de 50 dB, ce qui est extrêmement important. Pour rappel, la bibliographie indique que l'intensité sonore la plus efficace pour les micro organismes se situe entre 80 et 90 dB. Avec l'inox, cela implique de devoir jouer un son de l'ordre de 140 dB juste à côté du récipient. De plus, sa fréquence de coupure est de l'ordre de 1 kHz.

Le verre possède une bande passante utilisable de l'ordre de 1 kHz. L'atténuation dans cette bande est de l'ordre de 20 dB ce qui nous contraint à pousser un peu les enceintes jusqu'à 105 dB environ.

Nous concluons que le récipient en inox ne peut pas être utilisé pour l'expérience car il atténue de façon trop importante le son. Le verre en revanche possède une bande passante de l'ordre de 1kHz, et 105 dB est un ordre de grandeur atteignable avec nos haut parleurs.

Nous allons devoir composer avec ce récipient pour la suite de nos expériences et nous concentrerons donc à générer des stimuli dans cette bande de fréquence.

5 Génération des sons

Nous extrayons de notre bibliographie [4] les seules expériences réalisées avec des fréquences inférieures à 1 kHz, et nous basons dessus pour générer nos stimuli. L'intervalle fourni est [38 689] Hz que nous choisissons de couper en 2 pour tester les fréquences les plus basses en priorité car elles sont les moins atténuées par le matériel.

Les stimulus utilisés pour l'expérience ont été générés à travers MATLAB de deux façons différentes. Tout d'abord, le premier stimulus a été créé par synthèse additive. Cette technique permet de composer un son en additionnant des harmoniques de fréquence, amplitude et déphasage choisis par l'utilisateur. Le résultat est une somme de sinusoïdes multipliée ensuite par une enveloppe temporelle qui simule l'allure variable d'un morceau musical.

Nous avons créé deux stimulus avec cette méthode (code en Annexe A.2), le premier composé de fréquences dans l'intervalle [39 ; 325] Hz, le deuxième de fréquences dans l'intervalle [325 ; 689] Hz. Nous générerons 20 sinusoïdes comprises dans ces fréquences avec la fonction `linspace` puis appelons la fonction `synthadd` (code en Annexe A.3) capable de sommer ces sinusoïdes. La fonction `enveloppe` (code en Annexe A.4) prend en argument la durée de l'échantillon ainsi qu'une liste d'amplitudes qui modulent le volume de notre signal, nous choisissons 200 amplitudes de manière aléatoire entre 0 et 1 sur une durée totale de 10 minutes.

Nous avons ensuite généré un deuxième type de stimuli à partir de musique filtrée, et avons arrêté notre choix sur l'album ‘Hells Bells’ du groupe AC/DC. Nous avons utilisé un filtre FIR (Finite Impulsive Response) de Hamming de type bande passante d'ordre 200. Comme dit dans la partie précédente l'ordre du filtre indique la multiplicité du pôle correspondant à la fréquence de coupure. Les fréquences de coupure ont été choisies de la même façon que pour le premier stimulus. On génère l'intervalle de fréquences normalisées du filtre passe bande (dont la réponse en fréquence est en Figure 8 et le code en Annexe A.5) grâce à l'équation suivante :

$$\omega_n = \frac{2 \cdot [f_1 \ f_2]}{F_s} \quad (2)$$

La Figure 8 montre bien que le filtre coupe les fréquences entre $f_1 = 39$ Hz ($\simeq 0$ rad/sample = $2f_1/F_s$) et $f_2 = 325$ Hz ($\simeq 0,014$ rad/sample = $2f_2/F_s$, valeur à partir de laquelle l'amplitude diminue de 3 dB).

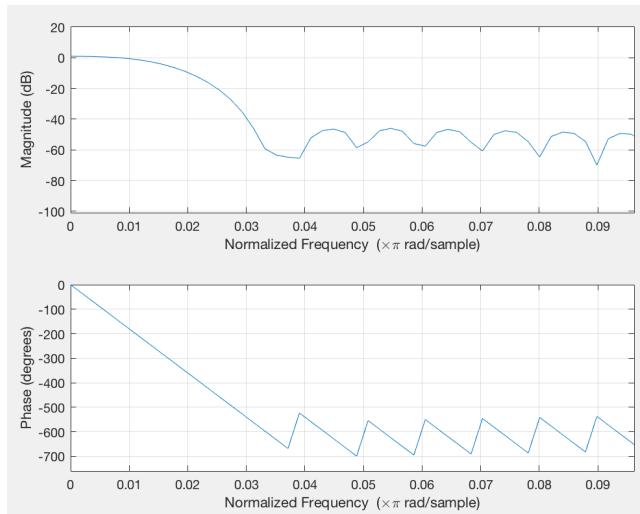


FIGURE 8 – Réponse en fréquence du filtre FIR.

Enfin la Figure ci-dessous (Figure 9) montre la transformée de Fourier pour un morceau de musique filtré avec ce filtre passe bande entre 39 et 1000 Hz. La première image (Figure 9a) montre la transformée complète qui donc est symétrique par rapport à la fréquence d'échantillonnage $F_s/2$, où $F_s = 44100$ Hz. La deuxième (Figure 9b) montre bien que les composantes fréquentielles n'apparaissent qu'aux alentours de 40/50 Hz et 900 Hz. On conclut que ce filtre est donc opérationnel.

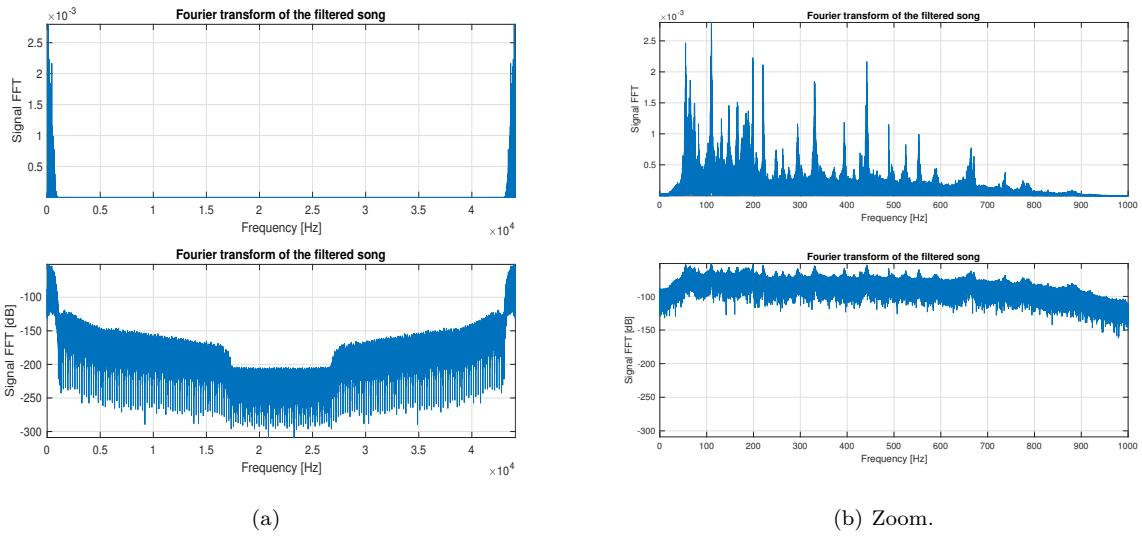


FIGURE 9 – Transformée de Fourier d'une chanson filtrée avec filtre passe bande.

6 Expérimentation Oniris

6.1 Protocole

On met un nombre statistiquement valide de bêchers/flacons (choix : 2. C'est un bon compromis entre la quantité des flacons disponibles et la dimension de la boîte insonorisée) dans une enceinte assez insonorisée et de diffuser du son pendant toute la durée de l'expérience. Il convient bien sûr de laisser le même nombre de bêchers/flacons sans musique pour témoin.

On distingue 2 types d'expériences en fonction des mesures que l'on veut réaliser :

- **Levures** : mesure de pression avec les flacons (Figure 10a)
- On dispose de 6 flacons pour le suivi en continu de la réaction. Après les mesures acoustiques réalisées, on conclut que la bande passante est de l'ordre de 1kHz, ce qui contraint l'utilisation, ou au moins la conclusion de l'expérience, à cette gamme de fréquence.
- **Bactéries lactiques** : suivi pH dans les bêchers (Figure 10b)
- Pas de problèmes de bande de fréquences avec ce système puisqu'il n'y a aucune interface autre que l'air entre la solution et les enceintes.

Avec 2 bêchers par enceinte pour stabiliser les résultats en vertu de la loi des grands nombres. On est donc limité par le nombre d'enceintes et de HP, il faudra réaliser plusieurs sessions de test.

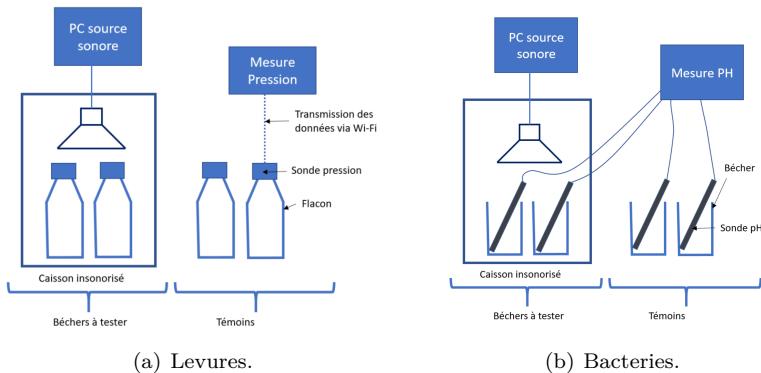


FIGURE 10 – Protocole expérimental pour le test sur les micro-organismes.

6.2 Matériel

- On utilise le matériel de chimie (sonde ph, flacons, bêchers..) de l'Oniris.
- Deux enceintes relativement insonorisées construites à la main dont la contrainte essentielle est d'éviter l'influence entre chaque enceinte. En se limitant essentiellement à cette fonction on choisit de placer de la mousse, du polystyrène et des couvertures dans deux cartons pour amortir au maximum le son.
- On utilise des enceintes de PC puisque les bandes passantes et l'intensité requise (environ 100 dB) sont dans l'audible. Pour les levures, nous mettons dans l'enceinte les 2 HP et le caisson basse pour transmettre le maximum d'énergie. Pour les bactéries, qui doivent être maintenues à 43° dans une étuve, nous récupérons un HP dans la salle projet de Centrale, et soudons un câble jack 3.5 dessus (Figure 11).



FIGURE 11 – Haut parleur destiné à l'étuve.

Le protocole se déroule comme suit (Figure 12) :

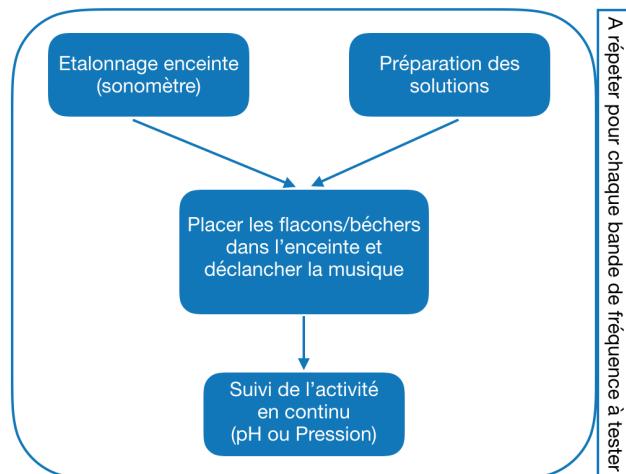


FIGURE 12 – Protocole expérimental.

- Etalonnage de l'enceinte insonorisée à l'aide du sonomètre. Nous nous assurons que le niveau sonore est d'environ 102 dBA pour toutes nos expériences, ce qui assure un niveau convenable dans les flacons.
- Préparation des solutions et étalonnage des sondes pH, mise en marche des sondes de pression :
 - Pour les levures : on dilue 0.5 g par litre de jus de pomme.
 - Pour les bactéries : on dilue 5 g de yaourt dans 150 mL de lait.
- On verse 100 mL de solution dans chaque bêcher et chaque flacon.
- Nous plaçons ensuite les flacons/bêchers dans les enceintes. Pour les bactéries, nous avons fait deux

tentatives dans une étuve (Figure 13a) mais il est impossible de contrôler parfaitement la température, les étuves ne sont pas fiables sur la durée de l'expérience. Le témoin (Figure 13a) qui est préparé en même temps est placé dans une étuve séparée. Il est donc difficile de contrôler la température. Les futures expériences seront donc réalisées en bain marie.

- Le suivi est ensuite réalisé grâce aux sondes de pH et de pression (Figure 14).



(a) Enceinte placée dans l'étuve.

(b) Témoin.

FIGURE 13 – Mise en place de l'expérience des bactéries.

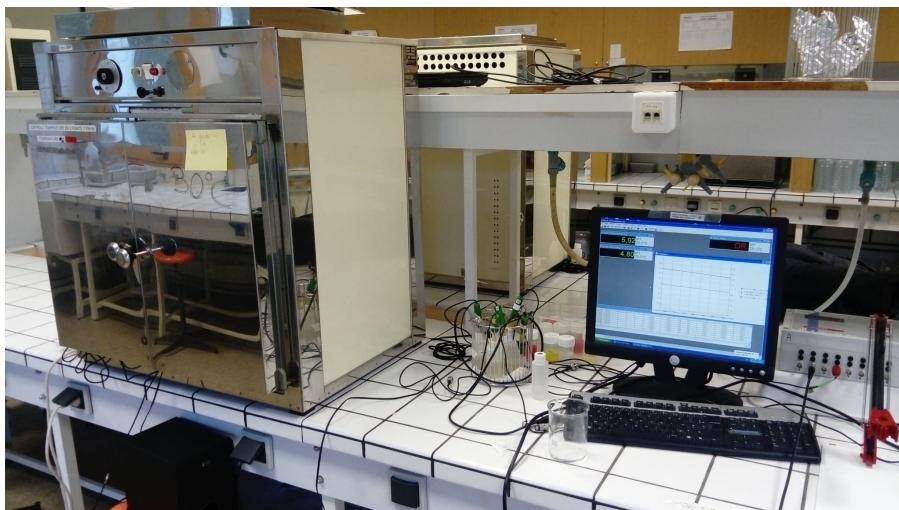


FIGURE 14 – Ordinateur destiné à la mesure des sondes pH.

7 Résultats

7.1 Pour les bactéries lactiques

Le nombre de paramètres mis en œuvre est élevé, et l'isolement de la variable “musique” n'est pas aisément du tout. D'autant qu'un paramètre tel que la température peut changer le cours complet de l'expérience, et c'est le facteur essentiel qui n'a pas permis de conclure à ce jour. Nous avons tenté plusieurs alternatives au cours de nos 5 séances d'expérimentation, les trois premières sessions ont été réalisées en plaçant nos flacons test dans une étuve, et les témoins dans une autre. Leur fiabilité est clairement mise en défaut car la régulation de température est très sommaire, et diffère d'une étuve à l'autre.

Les deux dernières sessions ont été réalisées, en plaçant les bêchers dans un bain marie, contrôlant ainsi le facteur température. Le haut parleur en Figure 11 est placé sur les bêchers et le pH est relevé tous les quarts d'heure. La première session a duré seulement 2h, et aucune influence n'a été remarquée, nous pouvons ici supposer que la durée d'expérience n'est pas suffisante pour remarquer une influence. Un problème de pH-mètre est survenu pendant la seconde session, ce qui nous empêche de conclure à ce jour.

7.2 Pour les levures

Trois sessions de tests ont été nécessaires pour régler le protocole et gommer les défauts que nous n'avions pu anticiper. Ces trois premières sessions de test ont fourni des résultats inexploitables. Le premier problème rencontré est dû à une mauvaise prise en main du système de mesure de pression. Les deux témoins ont été mal refermés et ont fuit pendant l'expérience rendant les résultats inexploitables. Le problème que nous avons identifié par la suite découle d'une différence de condition de température entre les flacons témoins et les flacons soumis à notre stimuli sonore. Comme détaillé dans la description du protocole, les flacons sont placés dans l'enceinte insonorisée, au plus proche des haut parleurs et du caisson basse (qui contient l'amplificateur sonore) et sont recouverts de tissus. La combinaison de l'enceinte fermée ainsi que la source de chaleur fournie par l'amplificateur a conduit à une différence de température, faussant de fait les résultats. Une solution a été partiellement trouvée lors de la quatrième session le 6 Mars en laissant les flacons test à l'air libre pendant la nuit sans les tissus dans le carton, évitant ainsi de déranger les cours du bâtiment. Enfin, le contrôle continu de la température à l'aide d'un thermomètre juste à côté des flacons a permis de s'assurer que la variable “musique” a été isolée le 14 Mars.

Ceux deux dernières sessions se sont révélées concluantes. Les courbes en Figure 15a obtenu le 6 Mars, et à côté les courbes moyennées Figure 15b (moyenne arithmétique des deux témoins et moyenne arithmétique des deux flacons tests) montrent une influence claire de la musique, même si une légère différence de T° (environ 2°) a été remarquée le matin. Nous mettons en cause la proximité du caisson basse avec les flacons test. La pression étant une image directe du développement des levures, on remarque après une dérivée numérique une croissance des levures dans les flacons tests va jusqu'à 15 mbar/h contre 9 mbar/h pour les témoins, soit une croissance jusqu'à 66% plus élevée par heure. La population de levure est également plus importante en comparant les deux valeurs finales de pression absolue, la population des levures test est 17% plus élevée que celle des témoins.

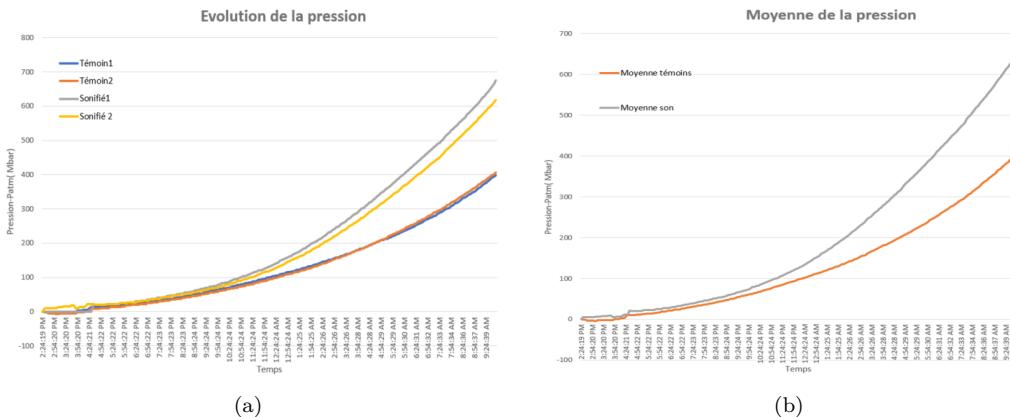


FIGURE 15 – Expérience du 6 Mars.

Pour s'affranchir du facteur “température” au maximum, la dernière session de test est réalisée le 14 Mars en surveillant la température à l'aide d'un thermomètre à côté des flacons pendant toute la durée de l'expérience. Nous obtenons les résultats ci-dessous (Figure 16).

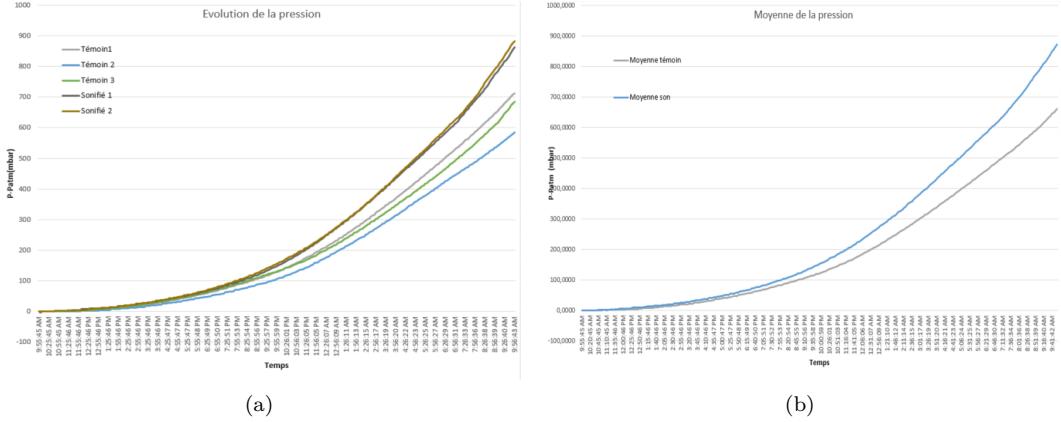


FIGURE 16 – Expérience du 14 Mars.

On remarque que la croissance maximale est de 12 mbar/h pour les témoins et 18 mbar/h pour les flacons tests, soit une croissance jusqu'à 50% plus élevée et une population 13% plus élevée en fin d'expérience.

8 Conclusion et perspectives

Grâce à ces sessions d'expérience, nous avons effectivement vérifié les assertions faites dans notre bibliographie : la musique a bien une influence sur les micro organismes. Les résultats obtenus lors de la dernière session sont concluants et indépendant du facteur température.

8.1 Pour les bactéries

Le protocole n'est pas encore définitif car isoler le facteur “musique” est très délicat. A ce jour, nous avons réussi à isoler les expériences du facteur température grâce aux bain marie, et disposons d'une méthode de suivi fiable avec un pHmètre. Il reste donc à persévéérer dans cette voie, on peut affiner les expérimentations pour pouvoir multiplier les échantillons statistiques. Le protocole actuel permet de travailler à l'air libre, et ainsi tester tout le panel de fréquence de l'audible.

8.2 Pour les levures

Malgré la contrainte de la faible bande passante des flacons en verre, nous pouvons conclure quant à l'influence du son sur ce micro-organisme. Ces levures sont sensibles aux fréquences entre 38 et 325 Hz. Une perspective intéressante serait de changer de méthode de mesure (croissance sur farine par exemple), pour pouvoir tester un spectre plus large de fréquences, et y dédier une quantité de temps plus importante (par exemple, lancer une session pendant 48h), et pouvoir ainsi multiplier les échantillons statistiques. Une fois quantifiée, il serait pertinent de comparer cette influence à l'effet de la température et ainsi pouvoir se poser une problématique de rentabilité. En perspective, on peut se poser une question énergétique, comparer la dépense d'énergie pour une enceinte acoustique, par rapport à un système de chauffage. Est-ce rentable ou non et à quelle échelle ? Pour un particulier qui écoute de la musique, pour un agriculteur dans un champ ou pour un maraîcher dans une serre la dépense ne serait évidemment pas la même.

Références

- [1] *The effect of music on plants* : <https://www.greenmylife.in/the-effect-of-music-on-plants/>
- [2] Jean-Marie Pelt, *Les langages secrets de la nature*, Paris, Fayard, 1998.
- [3] Rhuthmos, *La musique et les plantes*, 2015.
- [4] Niral Sarvaiya et Vijay Kothari, *Effect of Audible Sound in Form of Music on Microbial Growth and Production of Certain Important Metabolites*, 2014.
- [5] Shaobin Gu, Yongzhu Zhang et Ying Wu, *Effects of sound exposure on the growth and intracellular macromolecular synthesis of E. coli K-12*, 2016.
- [6] GENODICS, *Une nouvelle approche aux vivants* : <http://www.genodics.com>
- [7] Joël Sternheimer, musicien des protéines :
<http://www.rts.ch/play/radio/impatience/audio/jol-sternheimer-musicien-des-proteines?id=4057139&station=a9e7621504c6959e35c3ecbe7f6bed0446cdf8da%2Fla-1ere%2Fprogrammes%2Fimpatience%2F4057139-joel-sternheimer-musicien-des-proteines-25-06-2012.html>

Annexes

A Code Matlab

A.1 Transformée de Fourier

```
1 clear all; close all;
2 [Fn,Pn] = uigetfile('*.*', 'Choisir le fichier son entree ');
3 FichierListe=[Pn Fn];
4 [y1,Fe] = audioread(FichierListe);
5 n1=length(y1);
6 [Fn,Pn] = uigetfile('*.*', 'Choisir le fichier son sortie ');
7 FichierListe=[Pn Fn];
8 [y2,Fe] = audioread(FichierListe);
9 n2=length(y2);
10
11 n=min(n1, n2);
12 yn1=y1(1:n);
13 yn2=y2(1:n);
14
15
16 % placement de yn1 et yn2 dans une structure de donnees
17 DAT=idata(yn2,yn1,1/Fe)
18
19 % realisation de l'analyse spectrale de DAT.
20 % methode utilisant "smoothed spectral estimates"
21 g1= spa(DAT)
22 % diagramme de bode : trace la fonction de transfer
23 h=bodeplot(g1)
24 setoptions(h,'FreqUnits','Hz')
25
26 % Autre facon de faire : empirical transfer function
27 g2 = etfe(DAT)
28 figure(2)
29 h=bodeplot(g2)
30 setoptions(h,'FreqUnits','Hz')
```

A.2 Génération du son par la méthode de synthèse additive

```
1 %%
2 clear all;
3 close all;
4
5 %fréquence d'échantillonage
6 Fe = 44100;
7 %fréquence des harmoniques
8 f0 =linspace(39,325,20);
9 f1 =linspace(325,689,20);
10 %période
11 T = 10*60;
12 %instants de temps
13 dt = 1/Fe;
14 %vecteur des temps
15 t = 0:dt:T;
16
17 a1 = ones(1,20);
18 p1 = zeros(1,20);
19
20 amp=rand(1,200);
21
22 env=envelop(linspace(0,T,200),amp,Fe);
23
24 s0 = env.*synthad(a1,f0,p1,T,Fe);
25 s1 = env.*synthad(a1,f1,p1,T,Fe);
26
27 audiowrite('son00.m4a',s0,Fe);
28 audiowrite('son11.m4a',s1,Fe);
```

A.3 Fonction auxiliaire pour la synthèse additive

```

1 function s = synthad(a,f,p,T,Fe)
2 %     s = synthad(a,f,p,T,Fe)
3 % synthese additive
4 % cette fonction cree un son de duree T,
5 % compose des partiels f(n), d'amplitude a(n)
6 % et de phase a l'origine p(n).
7 % Fe est la frequence d'echantillonnage
8 %
9
10 % creation du vecteur temps discret
11 dt = 1/Fe;
12 t = 0:dt:T;
13 n = length(t);
14
15 % creation du son, boucle pour ajouter une a une
16 % les composantes frequenctielles
17 S = zeros(1,n);
18 K = length(f);
19 for k = 1:K
20     s = s+a(k)*sin(2*pi*f(k)*t+p(k));
21 end
22
23 % normalisation pour que les valeurs soient
24 % toutes dans l'intervalle [-0.99 0.99]
25 s = .99*s/max(abs(s));

```

A.4 Fonction auxiliaire pour créer une enveloppe

```

1 function env = envelop(t,a,Fe)
2 %     env = envelop(t,a,Fe)
3 % enveloppe parametree par t et a = env(t)
4 % t contient une liste d'instants t_k
5 % a contient la liste des amplitudes a_k aux instants t_k
6 % env est le son echantillonner a la frequence Fe,
7 % affine par morceaux, tel que env(t_k) = a_k
8 %
9
10 lt = length(t);
11 T = t(lt);
12 h = 1/Fe;
13 th = 0:h:T;
14
15 % test valide de t
16 if t(1) >= T
17     error('t incompatible dans envelop');
18 end
19
20 % test compatibilite t et a
21 if lt ~= length(a)
22     error('t et a de longueur differente dans envelop');
23 end
24
25 % au cas ou t ne serait pas strictement croissant :
26 for k = 2:lt-1
27     if (t(k) <= t(k-1)) | (t(k) >= t(lt))
28         t(k) = (t(k-1)+t(lt))/2;
29     end
30 end
31
32 % (ct+b)(t) = a
33 % autre possibilite :
34 % env = interp1(t,a,th,'linear');
35 % mais 2 fois plus long
36
37 n = length(th);
38 env = zeros(1,n);
39 ni = lt-1;

```

```

40 c = zeros(1,ni+1); b = c;
41 h2 = 0;
42
43 for k = 1:ni
44     h1 = h2+1; h2 = 1+floor(t(k+1)/h);
45     cb = [t(k) 1; t(k+1) 1]\[a(k) ; a(k+1)];
46     c = cb(1); b = cb(2);
47     env(h1:h2) = c*th(h1:h2)+b;
48 end
49
50 env = .99*env/max(env);
51
52 % ajout de bruit
53 %br = rand(1,n);
54 %b = fir1(100,.01);
55 %br = filter(b,1,br);
56 %env = env+br;

```

A.5 Filtrage d'un album de musique

```

1 %Generation su Son pour ONIRIS
2
3 %pass band filter
4 f1 = 39;
5 f2 = 1000;
6 Fe = 44100;
7
8 %[b,a] = butter(5,[f1 f2],'bandpass','s');
9 %H = tf(b,a);
10 %bode(H)
11 %H_t = ifft(H);
12
13 Wn = 2*[f1 f2]/Fe;
14 b = fir1(200,Wn,'bandpass');
15 freqz(b);
16
17 files = dir('/Volumes/Matteo_HD/ONIRIS/*.m4a');
18 son = [];
19
20 for i=1:10
21 %upload of the sound
22 file_name = files(i).name;
23 path = ['/Volumes/Matteo_HD/ONIRIS/',file_name];
24 [y,Fs] = audioread(path);
25 %filtering
26 y = filter(b,1,y);
27 %stock
28 son = [son; y];
29
30 % **** PLOT ****
31 % Ts = 1/Fs; %sampling time
32 % Ns = length(y); %number of samples
33 % f = 0:Fs/Ns:Fs*(1 - 1/Ns); %interval of frequencies
34 % fft_signal = 1/(Ns).*fft(y, Ns);
35 % fft_abs = abs(fft_signal);
36 % fft_log = 20*log10(fft_abs);
37 % fft_max = max(fft_abs); %max value of the fft
38
39 %singal audio Fourier transform
40 % figure(i)
41 % subplot(2,1,1);
42 % plot(f, fft_abs(:,1)); %linear scale plot
43 % xlabel('Frequency [Hz]');
44 % ylabel('Signal FFT');
45 % title('Fourier transform of the filtered song');
46 % axis([0 Fs min(fft_abs(:,1)) max(fft_abs(:,1))]);
47 % grid on;
48 %
49 % subplot(2,1,2);
50 % plot(f, fft_log(:,1)); %logarithmic scale plot

```

```
51 % xlabel('Frequency [Hz]');
52 % ylabel('Signal FFT [dB]');
53 % title('Fourier transform of the filtered song');
54 % axis([0 Fs min(fft_log(:,1)) max(fft_log(:,1))]);
55 % grid on;
56 end
57
58 %writing of the final audio file
59 audiowrite('son1.m4a',son,Fs);
```