

Composites fibre de soie / matrice de soie régénérée

Silk fibre reinforced silk matrix composites

Marine Wojcieszak¹, Aline Percot¹, Mathilde Tiennot,¹ Alba Marcellan², Philippe Colomban¹

1 : LADIR, umr 7075 CNRS
Université Pierre et Marie Curie (UPMC)
c49, 4 Place Jussieu, F- 75252 Paris Cedex 5
e-mail : marine.wojcieszak@gmail.com

2 : Laboratoire de Sciences et Ingénierie de la Matière Molle
umr 7615 CNRS, ESPCI-ParisTech, UPMC
10 rue Vauquelin, 75 005 Paris Cedex 05
e-mail : alba.marcellan@espci.fr

Résumé

Les ‘meilleures’ fibres de soie, polyamides naturels, présentent en dépit d’une très grande variabilité une très bonne résistance à la rupture (200-1000 MPa, typiquement). La bonne biocompatibilité des films de fibroïne de *Bombyx mori* pour des applications biomédicales a été démontrée, la soie ayant autrefois été utilisée comme fil de suture. Le processus de dissolution dégrade les macromolécules et les propriétés mécaniques de la soie régénérée, contrainte à la rupture comme allongement, sont bien inférieures à celle des fibres initiales (< quelques % en contrainte/fibre). L’objectif est d’améliorer les propriétés mécaniques en traction de films de soie régénérée par l’incorporation de fibres, avec ou sans leur gaine de séricine. Des fibres décreusées (gaine de séricine éliminée) sont dissoutes et dialysées afin d’obtenir un liquide/gel plus ou moins visqueux qui par évaporation produit une matrice de soie. Les modifications de structure et d’orientation des macromolécules de fibroïne sont suivies par spectroscopie Raman. L’incorporation de quelques % (en volume) de fibres améliore la résistance et l’énergie dissipée à la rupture. Le comportement mécanique apparaît très dépendant de la mise en œuvre et de nombreux paramètres restent à optimiser.

Abstract

The ‘best’ silk fibres (natural polyamide), present a very high breaking resistance but also a huge variability (typically 200-1000 MPa). Films made of *Bombyx mori* fibroin showed good biocompatibility suitable for biomedical applications, as silk was used as suture material for centuries. Solubilisation process degrades macromolecules and mechanical properties of regenerated silk, ultimate strain and stress, are drastically lower (a few %) than those measured for raw fibres. The goal of this work is to improve tensile mechanical properties of regenerated silk films by silk fibres reinforcement, degummed or not. Degummed fibres (i.e. without sericin coating) are dissolved and dialysed in order to obtain a liquid/gel more or less viscous followed by evaporation to obtain silk matrix. Structure and orientation modifications of fibroin macromolecules are monitored by Raman spectroscopy. The incorporation of a few fibre % vol improved the breaking resistance and dissipation. The mechanical behaviour of regenerated silk-base materials appeared as being dependent from chemical treatment and many parameters have to be optimized.

Mots Clés : soie, fibre, matrice, traction, allongement, biomédical

Keywords : silk, fibre, matrix, tensile stress, strain, biomedical

1. Introduction

La soie est un polyamide naturel – *la fibroïne* – généré notamment par les vers à soie pour abriter dans un cocon leur transformation en chrysalide puis en papillon. Le squelette de la chaîne polyamide $(\text{CR}_n\text{-NH-C=O})_n$ comporte des greffons R_n variables, principalement H (Glycine), CH_3 (Alanine) et $\text{CH}_2\text{-OH}$ (Sérine) avec de rares $\text{CH}_2\text{-SH}$ (cystéine) susceptibles de former des ponts disulfure [1-3]. L’hydrolyse du matériau transforme ces greffons en acides aminés (et *vice versa* l’animal construit le polyamide à partir de ces ‘briques’ élémentaires). Au contraire dans les polyamides synthétiques comme les nylon^{MD}, un seul greffon est présent (H) mais les groupements Amide sont séquencés avec des liaisons (C-C) [4-7]. L’usage est ancien - textile, plusieurs

millénaires, médical plusieurs siècles - et le principal animal producteur, le *Bombyx mori* est tellement domestiqué qu'il ne peut se reproduire et survivre sans l'aide de l'homme. Avec des procédés de sériciculture bien établis, 400 000 tonnes de cocons secs de vers sont produits dans le monde pour l'industrie textile, les principaux atouts de la soie comme constituant de fil textile étant sa longueur (>1000 m) et son lustre. Cependant, comme tout produit naturel les qualités sont très variables selon les lignées animales, les éleveurs, les traitements postérieurs, les aléas naturels, ... et seule une petite partie de la production satisfait par exemple les exigences du textile de luxe. En outre le vers à soie fabrique un bi-fil, la bave ou soie grège, enrobée d'une matière cireuse, la sérécine qui doit être éliminée pour les opérations de teinture.

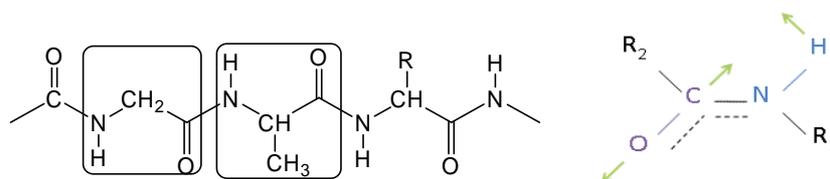


Fig. 1. Schéma de la macromolécule de fibroïne et de la fonction Amide I.

La fibre de soie présente de hautes propriétés mécaniques : une forte résistance et une large énergie à la rupture [1,2,8-10]. Ces caractéristiques sont associées à une bonne stabilité thermique et à l'environnement, une flexibilité de morphologie (gel dans la glande séricigène) ainsi que des caractéristiques adaptées aux applications biomédicales : bio-compatibilité (faibles réactions inflammatoires associées à la fibroïne), biodégradabilité protéolytique contrôlée, et possibilité de greffage chimique permettant par exemple d'immobiliser des facteurs de croissance [11-31, Tableau 1]. Les applications biomédicales visées nécessitent des propriétés physiques et chimiques contrôlées, modulables et reproductibles et donc une mise en forme spécifique : gels, membranes, etc.

Polymères d'origine naturelle, les fibres de soies montrent une variabilité morphologique et mécanique. Diverses stratégies sont mises en œuvre pour réduire cette importante variabilité : i) stratégie 'biologique' avec la sélection génétique des lignées de vers, leur modification génétique, la production bactérienne ou la production par transgénése et ii) stratégie 'chimique' avec la solubilisation de la fibroïne [1,10,18,32]. Les macromolécules de fibroïne étant de grande longueur et partiellement réticulées, la mise en solution est difficile et nécessite une dialyse pour éliminer les "outils" de dissolution. Le procédé de fabrication permet une élimination totale de la sérécine, la protéine à l'origine des réactions inflammatoires. L'obtention de solution de fibroïne permet la préparation de matériaux avec différentes morphologies, adaptables aux applications visées. Cependant il semble que la mise en solution modifie plus ou moins les macromolécules et leur interaction/réticulation ce qui entraîne un autre type de variabilité [8,9,18,19].

Le tableau I liste diverses applications biomédicales, ainsi que les propriétés mécaniques associées aux différentes morphologies.

Les films de fibroïne sont des partenaires intéressants pour de nombreuses applications potentielles ou en cours de tests. Cependant leur utilisation est limitée par leurs faibles propriétés mécaniques. Ces propriétés sont dépendantes des macromolécules constituant les films et de leur organisation structurale, comme la longueur des chaînes de polymère, leur alignement ou cristallinité, la teneur en eau, etc. Un contrôle de ces paramètres doit conduire à une meilleure compréhension du processus de mise en œuvre et à l'optimisation des conditions de solubilisation de la fibroïne. Pour améliorer les propriétés des films, certaines équipes proposent une réticulation chimique des chaînes de fibroïne [33] ou un renforcement de ces films par des fibres polymériques d'origine naturelle (protéines, polysaccharides...) ou synthétique (poly(acrylonitrile), polyester...)[34].

Notre objectif est d'améliorer les propriétés mécaniques en traction de films de soie régénérée par un renforcement avec des fibres de soie. Des travaux très préliminaires ont montré la facilité de préparation de films [8,18,19,35,36]. Dans ce travail des 'minicomposites modèles' (avec une seule

fibres pour évaluer le comportement de l'interface fibre/matrice, avec ou sans séricine, ou plusieurs (6) fibres) et des composites quasi unidimensionnels (1D) ont été préparés et caractérisés par analyse mécanique en traction uniaxiale. La spectroscopie vibrationnelle est utilisée pour caractériser la nanostructure des polymères, la méthode ayant démontrée son efficacité dans l'étude des fibres et composites et de leur comportement mécanique [3,7,35].

Matériaux	Propriétés mécaniques (E, GPa/Rr, MPA/ Ar, %)	Réf.	Applications biomédicales	Réf.
Fibres naturelles (avec séricine)	5-12/200-1000/15-20	[1,2,8,9,10]	Fils de suture	[12]
Fibres naturelles (sans séricine)	15-17/200-1000/4-16	[1,2,8,9,10]	Fils de suture	[12]
Films (traités)	22/3.6/140(?)	[17]	Ligaments, tendons	[13-16]
	1-6.5/7-40/0.6-1	[18, 19]	Pansements	[20]
			Réparation osseuse	[21]
			Réparation tissus hépatiques	[22, 23]
			Anti-thrombogénétique	[24, 25]
			Senseurs optiques	[26, 27]
Film (ultra)mince	6-8/100/0.5-3	[28]	Biosenseur	[28]
Fibres électrofilées	0.5/7/3	[29,30]	Greffe vasculaire	[31]
			Pansements	
			Support pour ingénierie tissulaire	

Tableau 1 : Caractéristiques mécaniques représentatives et applications biomédicales visées.
E; module d'Young initial; Rr: résistance à la rupture; Ar: allongement à rupture.

2. Matériaux et procédures

2.1 Matériaux

La procédure de solubilisation de la fibroïne des fibres de soie de *Bombyx mori* est schématisée Figure 2: 1) décreusage des cocons; cette étape consiste à éliminer la gaine de séricine qui enveloppe les deux brins de soie de la bave. Les cocons ou flottillons (soie dévidée) sont séchés à 100°C pendant 1h pour éliminer l'eau absorbée et déterminer la masse réelle, typiquement entre 0.26 g et 0.36 g par cocon avec ~7 % en masse d'eau. Les fibres sont ensuite traitées dans une solution aqueuse de Na₂CO₃ à 4 g/L sous agitation pendant 1h30 à 95°C. La fibroïne obtenue sous une forme de boule de « ouate » est abondamment rincée à l'eau distillée. Les fibres décreusées sont séchées 12 h à température ambiante. La masse obtenue de fibroïne correspond à ~77 % de la masse du cocon sec. La solubilisation de la fibroïne est effectuée en solution aqueuse de LiBr à 9 mol/L portée à une température d'environ 45°C. La solution est dialysée pendant 20 h avec une membrane Nadir^{MD} (Roth) appropriée aux macromolécules de 10 à 20 10³ Dalton afin d'éliminer le bromure de lithium. On obtient une solution très légèrement laiteuse à 17 g/L de fibroïne. Parfois un produit gélatineux se forme. Les films sont obtenus en laissant évaporer la solution à température ambiante pendant 48h dans des boîtes à échantillon en plastique. L'épaisseur obtenue en un cycle d'évaporation varie entre 15 et 85 µm selon la concentration initiale de solution et sa quantité. Les films sont découpés en languettes de 1 à 4 mm de large et 15 à 20 mm de long pour les mesures de traction sur le TU-1N et la machine I-100N (cf. §2.2).

Les films renforcés avec une ou plusieurs fibre(s) ou bifibre(s) (bave avec gaine originale de séricine) sont obtenus par 2 méthodes : 1) ou 6 filaments/baves sont i) enroulés et tendus sur un support constitué de deux vis, ii) les fils sont maintenus ensembles sans être tendus dans une boîte à échantillon. Ensuite la solution de fibroïne est coulée et évaporée à température ambiante pour former le film.

Différents types d'échantillons sont obtenus : le film sans renfort (noté F, Fig. 3a), le film renforcé avec une fibre (MF) ou une bifibre (BFs) ainsi que des films renforcés avec 6 fibres (HF, Fig. 3b) ou 6 bifibres (HBFs) ; les composites (CF & CBFs) sont préparés avec des nappes de fibres. Les

géométries simplifiées schématisées en Fig. 3c) sont utilisées pour le calcul des propriétés mécaniques. Des nappes de composite renforcé par plusieurs centaines de fibres sont préparées en tendant faiblement les fibres de flottillon grâce à des morceaux de scotch dans un moule en téflon. Un premier recouvrement de ces dernières par la solution de fibroïne est effectué puis après un premier cycle de séchage, un nouveau recouvrement peut être fait. L'opération est renouvelée jusqu'à obtention d'un remplissage significatif du volume interfibre. La porosité reste importante, de l'ordre de 70% pour les composites utilisés dans ce travail.

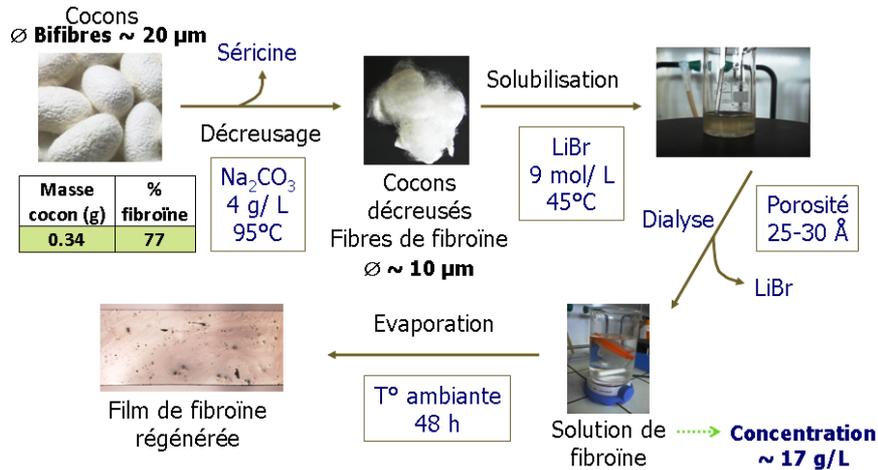


Fig. 2. Schéma de préparation des films de fibroïne

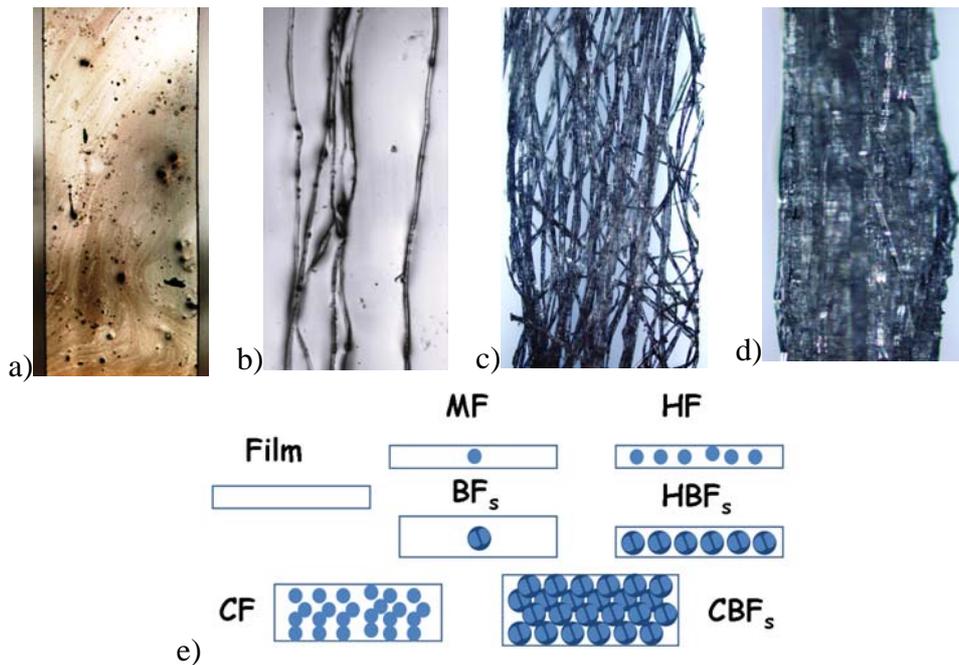


Fig. 3. Photographies a) d'un film de fibroïne, b) d'un film de fibroïne renforcé par 6 fibres de fibroïne non tendues, c) d'un 'feutre' de fibres enrobées et d) d'un composite quasi 1D ; e) Représentation schématique des échantillons caractérisés (acronymes, voir texte).

2.2 Caractérisation

Deux instruments sont utilisés pour la caractérisation en traction uniaxiale. Le testeur de fibre universel (TU-1N) pouvant supporter une force de traction maximale de 1 N avec précision 0.001 N et une précision sur le déplacement de $\pm 1 \mu\text{m}$. Il est utilisé pour la caractérisation des fibres isolées, de films et de certains composites. La force de rupture nécessaire pour rompre les

composites étant généralement supérieure à 1N, les essais ont été menés sur un dispositif de traction Instron 5565 équipé d'une cellule de force de capacité 100 N (I-100N, incertitude relative 0.16% de 0 à 0.1 N).

La découpe des bandes de composites ou de films est effectuée grâce à un double scalpel. Pour une manipulation plus facile et pour ne pas engendrer de défauts supplémentaires lors des manipulations, les fibres, films et composites sont placés dans un support en papier bristol et fixés grâce à de la colle néoprène avant d'être tirés [10,36]. La vitesse de traction est de 1 mm/min.

Un LabRam HR 800 de la société Horiba Jobin Yvon couplé à un Olympus BXFM-ILHS a été utilisé pour les mesures en spectroscopie Raman. La longueur d'onde 514,5 nm d'un laser Coherent Innova 90C-6 Ar⁺/Kr⁺ est bien adaptée à l'étude de la soie. Le faisceau est focalisé avec un objectif 100x à longue distance de travail (Ouverture Numérique: 0,80) ; avec cet objectif, le diamètre dans le plan horizontal du spot laser est considéré comme un cercle de diamètre $\sim 1,5 \mu\text{m}$, son extension suivant z étant double. Afin de ne pas altérer l'échantillon, la puissance est fixée $< 2 \text{ mW}$. Le diamètre du trou confocal est fixé à 300 μm . Un réseau de 1800 t / mm est utilisé et fournit une résolution de 0,5 cm^{-1} . Les spectres ont été enregistrés avec une gamme spectrale comprise entre 700 et 1800 cm^{-1} avec le logiciel LabSpec, l'échantillon étant placé sur un miroir d'or. La détection est réalisée grâce à un détecteur CCD refroidi par effet Peltier. Pour éliminer le fond de fluorescence, une ligne de base linéaire est soustraite avec le logiciel OPUS 7.0 aux points 600, 800, 1140, 1490 et 1750 cm^{-1} . Les matériaux, films ou amas compactés de fibres, sont caractérisés par diffraction RX en utilisant un diffractomètre Siemens en transmission équipé d'une anti-cathode de cobalt.

Le calcul des sections est difficile : par simplicité dans cette première approche la section est calculée à partir d'une moyenne de trois mesures de l'épaisseur et de la largeur en utilisant respectivement un micromètre et un microscope OLYMPUS BX 51 et le logiciel associé Analysis. Le volume de fibre est déduit du comptage du nombre de fibres dans le composite rapporté à la section moyenne définie ci-dessus. La porosité ouverte est déterminée par comparaison des poids à l'état sec et saturé d'eau. Elle est typiquement de 70% en volume.

3. Résultats et discussion

3.1 Incorporation de fibres

La Figure 3 montre des micrographies représentatives de films avec ou sans incorporation de fibres. Il n'y a pas de problème de mouillabilité entre fibre et solution de fibroïne, que les fibres soient décreusées ou non. De nombreux cycles de dépôt/enrobages sont nécessaires pour passer d'un 'feutre' à fibres enrobées à un matériau composite poreux. L'observation au microscope optique des films montre un contraste optique très variable selon les synthèses laissant penser une persistance d'amas de fibrilles de plusieurs cm de longueur (Fig. 3a).

La Figure 4a compare des courbes représentatives charge-déformation mesurées sur les différents objets avec le TU-1N: fibre, films et composites ; l'augmentation du travail dissipé est évidente, bien que la faible gamme de mesure du Testeur Universel ne permette pas d'aller jusqu'à la rupture des composites. Le comportement observé montre bien que les composites ayant un taux de fibre significatif ont un comportement initial linéaire (et donc un module d'Young initial) imposé par celui des fibres ; un écart à la linéarité et un transfert de charge sont mis en évidence.

La Figure 4b compare les courbes contrainte-déformation mesurées pour différents films : la distribution des caractéristiques est large, concernant aussi bien le module d'Young initial que la déformation et la contrainte à rupture. Cette très importante variation du comportement mécanique des films de soie régénérée avait déjà été observée dans les travaux préliminaires [8,10,18,19], avec des contraintes à rupture variant de quelques à plusieurs dizaines de MPa, sans que les paramètres déterminants n'aient encore pu être identifiés : conditions de dialyse, concentration initiale de fibroïne, température de mise en œuvre, etc.

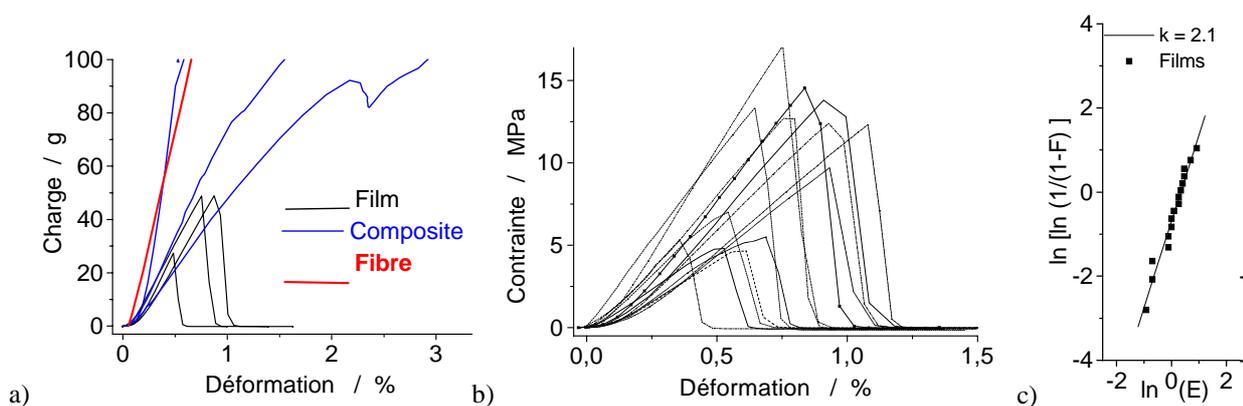


Fig. 4. Courbes de charge/contrainte-déformation des a) fibre, films et composites, b) films ; en c) distribution de Weibull mesurée pour le module de Young d'une série de films (concentration à 17 g/l de fibroïne).

3.2 Effet de la gaine de sérécine

Les (bi)fibres de *Bombyx mori* sont naturellement enrobées de sérécine. Il a été montré que dans les fils de soie grège l'enrobage de sérécine jouait un rôle significatif sur le comportement mécanique [2]. Par contre la comparaison des propriétés de baves et de fibres décreusées montre plutôt de meilleures propriétés pour les fibres décreusées. L'intérêt mécanique de la gaine de sérécine démontré pour les fils est-il significatif dans les composites à matrice de soie régénérée ? Nous comparerons d'abord des films renforcés soit par des fibres décreusées, soit par des baves c'est-à-dire des bi-fibres enrobées par une gaine commune de sérécine.

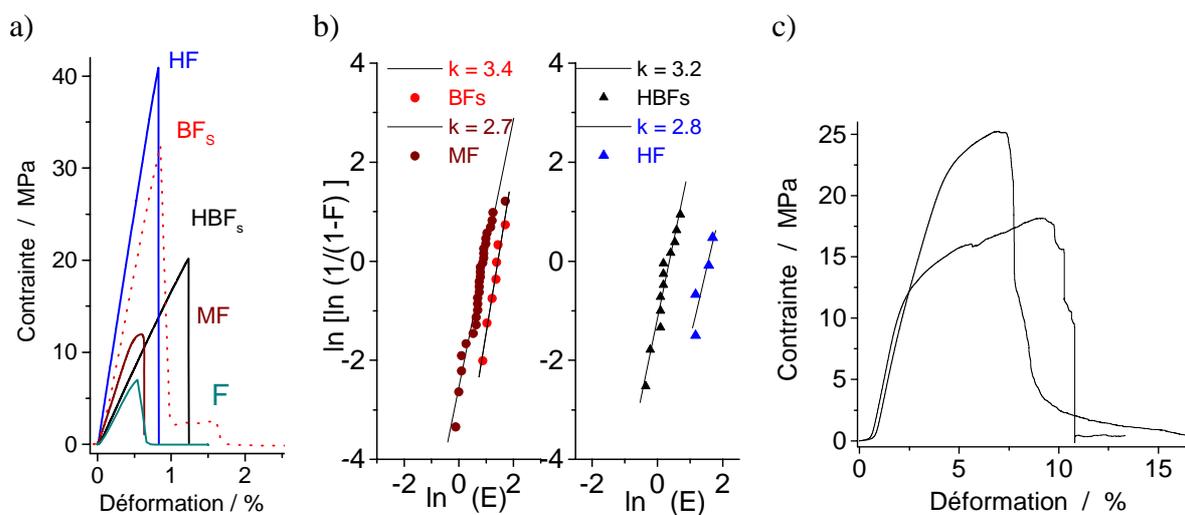


Fig. 5. a) Courbes de contrainte-déformation d'un film (F), d'un film renforcé par une fibre (MF), d'un film renforcé par une bifibre (BFs), d'un film renforcé par 6 fibres (HF), d'un film renforcé par 6 bifibres (HBFs), b) Courbes de Weibull pour les films, les films renforcés par une fibre et une bifibre et les films renforcés par 6 fibres ou bifibres ; c) exemples de courbes mesurées pour des composites 1D comptant environ 1000 fibres pour une section de $0,4 \times 5 \text{ mm}^2$ (volume de fibre ~5%, porosité ~70%).

La Figure 5 montre des courbes représentatives obtenues pour des films renforcés par 1 ou 6 fibres/baves et deux composites. Ces premiers résultats révèlent un renforcement : module et déformation à la rupture augmentent simultanément. Les courbes représentatives mesurées avec fibre(s) et bave(s) montrent un comportement linéaire (élastique) identique. La résistance à la rupture des films renforcés augmente avec le volume de fibre sans que la présence de sérécine n'entraîne de différence autre que le facteur 2 attendu par l'effet bi-fibre (Tableau 2). La sérécine étant gênante pour de nombreuses applications biomédicales, les composites seront réalisés avec des fibres exemptes de sérécine.

3.4 Composites

La Figure 5c présente deux courbes contrainte-déformation mesurées sur des films renforcés axialement. Malgré la faible fraction volumique de fibre (~ 5 %) le comportement est bien dissipatif avec un premier comportement linéaire (le module d'Young initial est de 3.7 GPa) jusqu'à ~2 à 5% selon l'échantillon, comme pour les fibres [8,9]. La résistance à la rupture calculée à partir de la section géométrique externe atteint 20-25 MPa, mais avec un allongement à la rupture multiplié par 10. Le faciès de rupture en peigne met en évidence une bonne adhérence de l'interface fibre-matrice. La prise en compte de la porosité (70%) conduit à une valeur d'environ 85 MPa, en accord avec le volume relatif fibre/matrice de 1/5.

	Contrainte* (MPa)	Déformation (%)	Module de Young (GPa)
Films sans renfort	10 - 30	~1	1.2 - 4
MF	10	1	2.2
BFs	15	1 - 3	2.8
HF	9	1	4.2
HBFs	7 - 17	1	1.2
Composites	18 - 25	7 - 10	3.7

Tableau 2: Contrainte (*rapportée au volume géométrique), déformation et Module de Young.

3.5 Optimisation du matériau

La forte dispersion des résistances à la rupture mesurées sur les films de soie régénérée peut avoir plusieurs origines, *a priori* i) la teneur en eau : les molécules d'eau peuvent s'insérer entre les macromolécules et ainsi par l'écartement des chaînes diminuer le nombre de liaisons covalentes par unité de volume et 'lubrifier' le glissement inter-chaînes : cet effet diminue par 2 la résistance à la rupture des fibres protéiques [3,9] - et ii) la dégradation de la nanostructure de la fibroïne : longueur et conformation des macromolécules. Les conditions homogènes de séchage garantissent une teneur en eau < 3% en masse suivant les mesures thermogravimétriques. La comparaison des spectres Raman et des diffractogrammes RX de fibres et de films est donnée Figure 6.

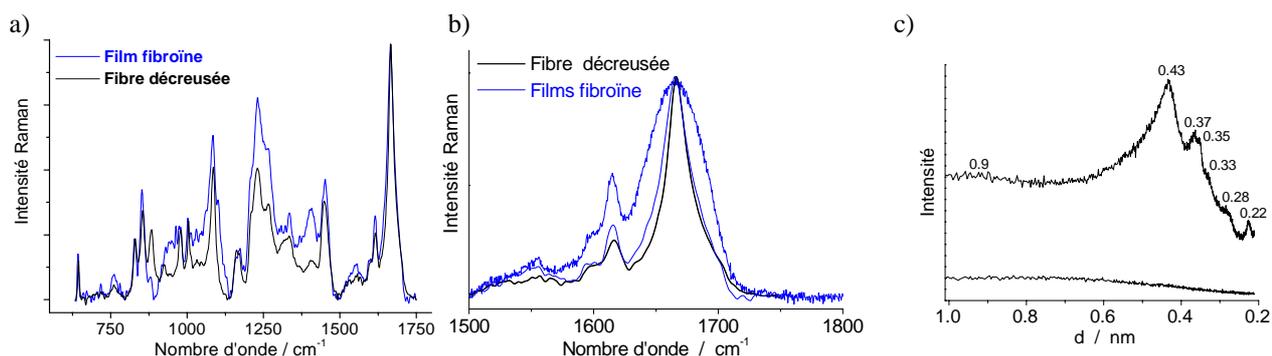


Fig. 6. Spectres Raman a) d'une fibre décreusée (noir) et d'un film (bleu); b) détail de la bande Amide I; c) comparaison des diffractogrammes d'un (épais) compact de fibres décreusées et d'un film (mince) de soie régénérée.

Les signatures Raman sont comparables. Néanmoins, alors que la largeur des pics Raman est quasi constante quelque soit la fibre (e.g. ~ 23 cm⁻¹ à mi-hauteur pour le mode Amide I [8,9]), de fortes différences sont observées selon les films analysés avec des largeurs variant entre 30 et 60 cm⁻¹ (Fig. 6b). En outre alors que le spectre Raman d'une fibre est fortement polarisé selon l'orientation du vecteur E de l'onde lumineuse par rapport à l'axe de la fibre [8,9], le spectre des films est

quasiment non-polarisé, indiquant une absence d'anisotropie aux échelles (sub)nanométriques. Cela indique que les paramètres de synthèse peuvent modifier fortement les chaînes macromoléculaires et leur organisation. Cela est aussi évident en diffraction RX, avec un caractère très amorphe des films tandis que la fibre initiale présente une certaine organisation à courte distance (Fig. 6c). L'examen au microscope optique des films met en évidence des hétérogénéités (Fig. 3a) en accord avec une organisation fibreuse complexe et variable, les amas fibreux étant plus ou moins orientés.

4. Conclusions

Ce travail démontre la possibilité de préparer des composites à matrice de soie régénérée renforcée par des fibres de soie décreusées. La déformation à la rupture des systèmes est augmentée significativement et le module initial semble aussi renforcé, dans la mesure où le faible nombre d'objets étudiés autorise une conclusion. Le processus de synthèse (minimisation de la dégradation des macromolécules de fibroïne) et la mise en œuvre (obtention d'une matrice moins poreuse, fabrication de composites 2D ou de feutres/'papiers') doivent être optimisés. Ces premiers résultats sont encourageants pour le développement de matériaux composites fibre de soie/matrice de soie régénérée.

Références

- [1] H.M. DINH, « Etude IR/Raman de la variabilité de fibres protéiques: corrélations entre structure locale, traitements et propriétés (nano)mécaniques de fibres et films de soie », Thèse UPMC, Paris 2010, <http://www.ladir.cnrs.fr/pages/colomban/Manh-Thesis.pdf>
- [2] V. JAUZEIN, « Etude de la microstructure et du comportement mécanique de la fibre de soie » Thèse Mines ParisTech, Paris, Novembre 2010, <http://pastel.archives-ouvertes.fr/docs/00/54/09/41/PDF/Jauzein.pdf>
- [3] R. PAQUIN, Ph. COLOMBAN, « Nanomechanics of single keratin fibres: A Raman study of the α helix- β sheet transition and water effect ». *J. Raman Spectrosc.* Vol. 38, pp 504-514, 2007.
- [4] A. MARCELLAN, Ph. COLOMBAN, A. BUNSELL, « (Nano)structure, Internal Stress and *in situ* Fracture Behaviour of Polyamide Fibres ». *J. Raman Spectrosc.* Vol. 35, pp 308-315, 2004,
- [5] Ph. COLOMBAN, G. SAGON, M. LESAGE, J.M. HERRERA-RAMIREZ, « MicroRaman Study of the Compressive Behaviour of Polyamide (PA66) Fibres in a Diamond –Anvil Cell ». *Vibrational Spectroscopy* Vol. 37, pp 83-90, 2005.
- [6] Ph. COLOMBAN, G. GOUADEC, « Raman and IR micro-analysis of high performance polymer fibres tested in traction and compression ». *Comp. Sci. & Techn.*, Vol. 69, pp 10-16, 2009
- [7] Ph. COLOMBAN, J.M. HERRERA RAMIREZ, R. PAQUIN, A. MARCELLAN, A. BUNSELL, « Micro-Raman Study of the Fatigue and Fracture Behaviour of single PA66 Fibres. Comparison with single PET and PP fibres ». *Engn Fracture Mech.* Vol. 73, pp 2463-2475, 2006.
- [8] Ph. COLOMBAN, H.M. DINH, J. RIAND, L. PRINSLOO, B. MAUCHAMP, « Nanomechanics of single silkworm and spider fibres: a Raman and micromechanical *in situ* study ». *J. Raman Spectrosc.* Vol. 39, pp1749-1764, 2008.
- [9] Ph. COLOMBAN, H.M. DINH, A. BUNSELL, B. MAUCHAMP, « Origin of the variability of the mechanical properties of silk fibres: I, the relationship between disorder, hydration and stress/strain behaviour ». *J. Raman Spectrosc.* Vol. 43, pp 425-432, 2012.
- [10] Ph. COLOMBAN, S.E. MOUKIT, H.M. DINH, M. HASSINE, J. RIAND, B. MAUCHAMP, « Micro- & Nanomécanique des fibres naturelles (animales) ». *Rev. Comp. & Matér. Avancés* Vol. 18, pp 163-168, 2008.

- [11] C. J. PÉREZ-RIGUEIRO, J. VINEY, M. LLORCA, M. ELICES, « Mechanical properties of single-brin silkworm silk ». *J. Appl. Polym. Sci.* Vol. 75, pp 1270-1277, 2000.
- [12] R.L. MOY, A. LEE, A. ZALKA, « Commonly used suture materials in skin surgery ». *Am. Fam. Physician* Vol. 44, pp 2123-2128, 1991.
- [13] J.E. MOREAU, J. CHEN, R.L. HORAN, D.L. KAPLAN, G.H. ALTMAN, « Sequential growth factor application in bone marrow stromal cell ligament engineering ». *Tissue Eng.* Vol. 11, pp 1887-1897, 2005.
- [14] J. CHEN, G.H. ALTMAN, V. KARAGEORGIU, R. HORAN, A. COLLETTE, V. VOLLOCH, T. COLABRO, D.L. KAPLAN, « Human bone marrow stromal cell and ligament fibroblast responses on RGD-modified silk fibers ». *J Biomed Mater Res A* Vol. 67, pp 559-570, 2003.
- [15] G.H. ALTMAN, R.L. HORAN, H.H. LU, J. MOREAU, I. MARTIN, J.C. RICHMOND, D.L. KAPLAN, «Silk matrix for tissue engineered anterior cruciate ligaments». *Biomaterials* Vol. 23, pp 4131-4141, 2002.
- [16] T. KARDESTUNCER, M.B. MCCARTHY, V. KARAGEORGIU, D. KAPLAN, G. GRONOWICZ, «RGD-tethered silk substrate stimulates the differentiation of human tendon cells». *Clin Orthop Relat Res* Vol. 448, pp 234-239, 2006.
- [17] B.D. LAWRENCE, S. WHARRAM, J.A. KLUGE, G.G. LEISK, F.G. OMENETTO, M.I. ROSENBLATT, D.L. KAPLAN, «Effect of hydration on silk film material properties». *Macromol. Biosci.* Vol. 10, pp 393-403, 2010.
- [18] M. HASSINE, Etudes des propriétés mécaniques et de l'état microstructural de films de soie régénérée, Rapport de stage LADIR, Thiais, Master 1 Génie des matériaux, université d'Evry, Val d'Essonne, 2007.
- [19] M. TIENNOT, Fibres, films et composites de soie. Rapport de stage Master 1 Mécanique des matériaux et des structures, CNRS-UPMC-LADIR., 2011.
- [20] A. SUGIHARA, K. SUGIURA, H. MORITA, T. NINAGAWA, K. TUBOUCHI, R. TOBE, M. IZUMIYA, T. HORIO, N.G. ABRAHAM, S. IKEHARA, « Promotive effects of a silk film on epidermal recovery from full-thickness skin wounds ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* Vol. 225, pp 58-64, 2000.
- [21] V. KARAGEORGIU, L. MEINEL, S. HOFMANN, A. MALHOTRA, V. VOLLOCH, D. KAPLAN, « Bone morphogenetic protein-2 decorated silk fibroin films induce osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells ». *J Biomed Mater. Res. A* Vol. 71, pp 528-537, 2004.
- [22] S. SOFIA, M.B. MCCARTHY, G. GRONOWICZ, D.L. KAPLAN, «Functionalized silk-based biomaterials for bone formation». *J. Biomed Mater Res* Vol. 54, pp 139-148, 2001.
- [23] R. KINO, T. IKOMA, A. MONKAWA, S. YUNOKI, M. MUNEKATA, J. TANAKA, T. ASAKURA, « Deposition of bone-like apatite on modified silk fibroin films from simulated body fluid ». *J. Appl. Polym. Sci.* Vol. 99, pp 2822-2830, 2006.
- [24] K. HU, Q. LV, F.Z. CUI, Q.L. FENG, X.D. KONG, H.L. WANG, L.Y. HUANG, T. LI, « Biocompatible Fibroin Blended Films with Recombinant Human-like Collagen for Hepatic Tissue Engineering ». *J. Bioact. Compat. Polym.* Vol. 21, pp 23-37, 2006.
- [25] K.Y. LEE, S.J. KONG, W.H. PARK, W.S. HA, I.C. KWON, « Effect of surface properties on the antithrombogenicity of silk fibroin/S-carboxymethyl keratine blend films ». *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* Vol. 9, pp 905-914, 1998.
- [26] B.D. LAWRENCE, M. CRONIN-GOLOMB, I. GEORGAKOUDI, D.L. KAPLAN, F.G. OMENETTO, « Bioactive silk protein biomaterial systems for optical devices ». *Biomacromolecules* Vol. 9, pp 1214-1220, 2008.
- [27] F.G. OMENETTO, D.L. KAPLAN, « A new route for silk ». *Nat. Photonics* Vol. 2, pp 641-643, 2008.

- [28] C. JIANG, X. WANG, R. GUNAWIDJAJA, Y.H. LIN, M.K. GUPTA, D.L. KAPLAN, R.R. NAIK, V.V. TSUKRUK, « Mechanical Properties of Robust Ultrathin Silk Fibroin Films ». *Adv. Funct. Mater.* Vol. 17, pp 2229-2237, 2007.
- [29] M. WANG, H.-J. JIN, D.L. KAPLAN, G.C. RUTLEDGE, « Mechanical Properties of Electrospun Silk Fibers ». *Macromolecules* Vol. 37, pp 6856-6864, 2004.
- [30] J. AYUTSEDE, M. GANDHI, S. SUKIGARA, M. MICKLUS, H.-E. CHEN, F. KO, « Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning. Part 3: characterization of electrospun nonwoven mat ». *Polymer* Vol. 46, pp 1625-1634, 2005.
- [31] H.J. JIN, J. CHEN, V. KARAGEORGIU, G.H. ALTMAN, D.L. KAPLAN, « Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats ». *Biomaterials* Vol. 25, pp 1039-1047, 2004.
- [32] Ph. COLOMBAN, A. TOURNIE, H.M. DINH, V. JAUZEIN, « Origin of the variability of the mechanical properties of silk fibres: III, Order and macromolecule orientation in Bombyx mori bave, hand-stretched strings and Nephila madagascarensis spider fibres ». *J. Raman Spectrosc.* Vol. 43, pp 1042-1048, 2012.
- [33] M. LI, W. TAO, S. LU, S. KUGA, « Compliant film of regenerated Antheraea pernyi silk fibroin by chemical crosslinking ». *Int. J. Biol. Macromol.* Vol. 32, pp 159-163, 2003
- [34] J.G. HARDY, T.R. SCHEIBEL, « Composite materials based on silk proteins ». *Prog. Polym. Sci.* Vol. 35, pp 23-23, 2010.
- [35] Ph. COLOMBAN « Understanding the nano- and macromechanical behaviour, the failure and fatigue mechanisms of advanced and natural polymer fibres by Raman/IR microspectrometry ». *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* Vol. 4, pp 013001, 2013
- [36] H.M. DINH, C. PARIS, Ph. COLOMBAN, B. MAUCHAMP, « Structure, micro- et nanomécanique de fibres de soie ». *Comptes-Rendus des JNC 16, 16èmes journées nationales sur les composites, Toulouse*, Ph. Olivier & J. Lamont Eds, AMAC, Paris, <http://hal.archives-ouvertes.fr/docs/00/39/75/75/PDF/244b.pdf>
- [37] Ph. COLOMBAN, DINH, H. M., « Origin of the variability of the mechanical properties of silk fibres: II, the nanomechanics of single silkworm and spider fibres ». *J. Raman Spectrosc.* Vol. 43, pp 1035-1041, 2012.