HAL
open science

Étude de la microstructure et du comportement mécanique de la fibre de soie

Vincent Jauzein

▶ **To cite this version:**

Vincent Jauzein. Étude de la microstructure et du comportement mécanique de la fibre de soie. Matériaux. École Nationale Supérieure des Mines de Paris, 2010. Français. NNT : 2010ENMP0034 . pastel-00540941

HAL Id: pastel-00540941

https://pastel.hal.science/pastel-00540941v1

Submitted on 29 Nov 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY

MINES ParisTech

Ecole doctorale n° 432 : Sciences des Métiers de l'Ingénieur

Doctorat ParisTech

T H È S E

pour obtenir le grade de docteur délivré par

l'Ecole nationale supérieure des mines de Paris

Spécialité « Sciences et génie des matériaux »

présentée et soutenue publiquement par

Vincent JAUZEIN

le 4 Novembre 2010

Etude de la microstructure et du comportement mécanique de la fibre de soie

Directeur de thèse : **Anthony BUNSELL**

Jury

M. Jean-Louis HALARY, Professeur, PPMD, ESPCI ParisTech	Président
Mme Liliane LEGER, Professeur, LPS, Université Paris-Sud 11	Rapporteur
M. Jean-Marc SAITER, Professeur, LECAP, Université de Rouen	Rapporteur
M. Anthony BUNSELL, Maître de Recherche, Centre des Matériaux, Mines Paristech	Examinateur
M. Bernard MAUCHAMP, Directeur de Recherche, Unité Nationale Sericicole, INRA	Examinateur
M. Philippe COLOMBAN, Directeur de Recherche, LADIR, Université Pierre et Marie Curie	Examinateur
M. Jacques POULENARD, Directeur Recherche et Qualité, Perrin et fils	Examinateur

T H È S E

MINES ParisTech
Centre des Matériaux
Centre des Matériaux, Mines Paris, Paristech, CNRS UMR 7633, BP 87 F-91003 Evry cedex, FRANCE

Résumé

Les polymères naturels présentent de plus en plus une alternative crédible pour de nombreuses applications techniques et biomédicales. Ils possèdent des qualités de modularité, de durabilité, souvent de biocompatibilité, qui leurs sont propres. Mais la compréhension détaillée des mécanismes qui gouvernent le comportement de tels matériaux est difficile et reste souvent incomplète. Cette étude a cherché à mieux comprendre le lien qu'il existe entre le comportement mécanique et la microstructure pour la fibre de soie.

Une caractérisation minutieuse du comportement mécanique a donc été effectuée par des moyens parfois originaux comme l'association entre une machine de traction et une observation en microscopie électronique. Il a ainsi été montré l'aspect composite du fil de soie industriel et l'importance des différents éléments constitutifs de la soie. Le comportement de la fibre a également été décrit dans différentes conditions atmosphériques d'humidité et de température.

Cette caractérisation s'est accompagnée d'une description de la microstructure en utilisant des techniques telles que la diffraction aux rayons X et la spectrométrie Raman. Notamment, la spectrométrie Raman a pu être associée à une traction *in situ*. Ceci a permis d'établir des liens entre mécanique et microstructure.

Il a ainsi été prouvé notre capacité à modifier la microstructure et le comportement mécanique de la soie par voie biotechnologique en modifiant le génome du *Bombyx mori*. Ce qui ouvre une nouvelle voie d'innovation prometteuse pour améliorer ce type de matériau.

Enfin, une modélisation simple mais robuste basée sur une description physique du matériau a permis de valider les avancées faites quant à la compréhension de ce polymère. Le comportement en environnement contrôlé a été étudié. Ces résultats pourraient alimenter des études numériques sur des assemblages, plus proches du produit fini.

Mots clefs : Soie, microstructure, comportement mécanique, analyse multiéchelle, Diffraction aux rayons X, microextensométrie Raman, *Bombyx mori*, araignée

---

Abstract

Natural polymers seem to be more and more a credible alternative for many applications such as technical or biomedical applications. They have evident qualities such as modularity, durability, and usually biocompatibility. Nevertheless a detailed understanding of the mechanisms governing the behaviour of these materials is difficult and usually incomplete. This study deals with the understanding of the relationship between the mechanical behaviour and microstructure of silk fibres.

Precise mechanical characterization has been carried out, sometimes with original experiments such as the association of a mechanical testing machine and electronic microscopy. Hence, it has been shown that silk presents a composite behaviour and all its constituents are important explaining the mechanical behaviour of industrial silk yarns. This behaviour has been described under different atmospheric conditions of temperature and humidity.

This characterization has been linked with a microstructural description using X-ray diffraction and Raman spectroscopy techniques. Notably, Raman spectrometry has been associated with an *in situ* mechanical tester machine. This has permitted a discussion about the link between microstructure and mechanical behaviour.

In this way, it has been proved that it is possible to control microstructure and mechanical behaviour using biotechnologic methods at the genetic level. This opens new ways for promising improvements for such material.

Finally, a model has been developed, which is simple but effective, based on a physical description of the material. This has validated the advances, made in this study, into the understanding of silk. These results are expected to encourage other numerical studies on assemblies, in order to bring a new point of view about industrial products.

Keywords : Silk, microstructure, mechanical behaviour, multiscale analysis, X-ray diffraction, Raman microextensometry, *Bombyx mori*, spider

Remerciements

Je tiens à remercier tout d'abord les personnes qui m'ont aidé tout au long de mon parcours scientifique. Pour en citer quelques unes : Catherine Lapierre, Violaine Athès, et Douglas Rutledge respectivement en Licence, M1 et M2 à l'Institut National Agronomique de Paris Grignon. Je pense également à mes contacts à l'étranger qui m'ont beaucoup apporté d'un point de vue scientifique et personnel, Alexander Bismarck de l'Imperial College de Londres, Mikael Gällstedt de Innventia anciennement STFI Packforsk et Mikael Hedenqvist de KTH University à Stockholm, et Marion Pommet depuis revenue en France. Je voudrais remercier chaleureusement Anthony Bunsell pour m'avoir accepté en thèse à l'Ecole des Mines de Paris et soutenu durant ces trois années.

J'aimerais ensuite remercier les responsables scientifiques avec lesquelles j'ai échangé pendant ce projet et le support technique au sein des différents établissements : ENSMP ; LADIR (CNRS) ; ESPCI ; INRA.

Merci à Jacques Poulenard de *Perrin et fils* pour son investissement et la soie qu'il nous a fourni, indispensable à la réalisation de ces recherches. Un mot pour l'ANR également qui a financé le projet. Merci aux autres que j'ai oublié.

Je souhaite une bonne continuation aux collègues.

Et pour finir, je remercie mes amis et ma famille et tout particulièrement Charlotte Thomas, ma compagne bien aimée.

Notations

Instrumentation

Mécanique

LVDT : Linear Variable Differential Transfomer

MEMS : Micro Electro Mechanic System

Numérique

MDS : Molecular Dynamics Simulation

Spectroscopie

NMR : Nuclear Magnetic Resonance

CP/MAS NMR : Cross-Polarization Magic Angle Spinning Nuclear Magnetic Resonance

S-s REDOR NMR : Solid State Rotational Echo Double Resonance Nulear Magnetic Resonance

WAXS : Wide Angle X-ray Scattering

SAXS : Small Angle X-ray Scattering

XRD : X-ray Diffraction

Thermique

DMTA : Dynamic Mechanical Thermal Analysis

DSC : Differential Scanning Calorimetry

TGA : ThermoGravimetric Analysis

TMDSC : Temperature-Modulated Differential Scanning Calorimetry

Unités

Angulaire

Rad : radian

Masse et densité

g.cm^{-3} : gramme par millimètre cube

kDa : kilo daltons, unité de mesure en biologie, elle vaut environ la masse d'un proton

den : denier, unité textile

tex : tex, unité textile

ρ : masse volumique (kg.m^3)

Métrique

Å : angström, 10^{-10}m

nm : nanomètre, 10^{-9}m

μm : micromètre, 10^{-6}m

mm : millimètre, 10^{-3}m

cm^{-1} : unité du nombre d'onde ($1/\lambda$)

l : litre (un décimètre cube)

Energie et force

GPa : giga Pascal

MPa : mega Pascal

N : newton

keV : kilo électron volt

mW : milliwatt, 10^{-3}W

Sigles et abbréviations

Chimie et biologie

ac. : acide

Ala : alanine

Cys : cystéine

Gly : glycine

Pro : proline

Ser : sérine

Tyr : tyrosine

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ARN : Acide RiboNucléique

C : carbone

N : azote

Cp : fraction précipitée

Cs : fraction soluble

LiBr : lithium brome

LiSCN : lithium thiocyanate

MaSp : Major ampullate Spidroin

Physique

b : pente de plasticité

E : module initial (précision dans le texte)

I : indice de circularité ou de cristallinité

L_j : longueur de jauge

L_c : longueur critique

Pente$_i$: pente initiale

R0 : seuil de plasticité

RH : Humidité Relative (Relative Humidity, *EN*)

T_g : température de transition vitreuse (glassy Temperature, *EN*)

ϵ : déformation (précision dans le texte)

σ : contrainte (précision dans le texte)

τ : temps caractéristique

τ_y : contrainte maximale de cisaillement à l'interface

Autre

ext. : extérieur

int. : intérieur

LASER : Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

UNS : Unité Nationale Séricicole

USI : Unité du Système International

Symboles

$\varnothing$: diamètre

$\sim$: environ (approximation)

Table des matières

1 Contexte de la thèse **3**
1.1 Histoire et généralités . . . 5
1.2 De la synthèse à la production de soie de *Bombyx mori* . . . 7
1.2.1 La production de soie par le ver . . . 7
1.2.2 Les procédés industriels . . . 9
1.3 Microstructure de la soie de *Bombyx mori* . . . 11
1.3.1 La production du fil de soie . . . 11
1.3.2 La microstructure . . . 15
1.4 Autres matériaux . . . 21
1.4.1 La soie d'araignée . . . 21
1.4.2 Les autres sources de soie . . . 25
1.4.3 La soie régénérée . . . 25
1.5 Applications . . . 27
1.5.1 Textile et technique . . . 27
1.5.2 Biomédical . . . 27
1.5.3 Autres possibilités . . . 28
1.6 Caractérisation . . . 29
1.6.1 Le comportement mécanique . . . 29
1.6.2 Les autres caractérisations . . . 33
1.6.3 Le lien microstructure / comportement . . . 33
1.7 Conclusions . . . 36

2 Matériaux et méthodes **39**
2.1 Nomenclature des soies utilisées . . . 41
2.1.1 Cocons UNS . . . 41
2.1.2 Organismes génétiquement modifiés . . . 41
2.1.3 Organismes témoins de la modification génétique . . . 41
2.1.4 Fil industriel . . . 42
2.1.5 Fil industriel décreusé . . . 42
2.1.6 Fibroïne extraite de la glande . . . 42
2.2 Méthodes de traitement . . . 43
2.2.1 Dévidage du cocon . . . 43
2.2.2 Décreusage . . . 43
2.3 Techniques d'observation . . . 44
2.3.1 Procédés préalables pour la mesure de la section . . . 44
2.3.2 Observations en microscopie . . . 44
2.3.3 Analyse d'image . . . 44
2.4 Essais mécaniques . . . 45
2.4.1 Préparation de l'échantillon . . . 45
2.4.2 Universal Fibre Tester . . . 45
2.4.3 Variété de tests . . . 46
2.4.4 Exploitation des résultats de traction . . . 46
2.4.5 Exploitation des résultats de relaxation et de fluage . . . 48
2.4.6 Exploitation des essais complexes . . . 48

2.4.7 Essais en humidité saturante . . . 49
2.4.8 Essais en température . . . 49
2.5 Diffraction aux rayons X . . . 50
2.5.1 Diffraction aux rayons X sur film . . . 50
2.5.2 Diffraction aux rayons X par Wide Angle X-ray Scattering . . . 51
2.5.3 Diffraction aux rayons X par Small Angle X-ray Scattering . . . 51
2.6 Spectrométrie RAMAN . . . 52
2.7 Modèles numériques . . . 53

3 Caractérisation mécanique **55**
3.1 Caractérisation morphologique . . . 57
3.1.1 Observations du fil de ver à soie . . . 57
3.1.2 Mesure de la section . . . 62
3.1.3 Variabilité longitudinale . . . 66
3.1.4 Fractographie . . . 67
3.2 Caractérisation mécanique . . . 68
3.2.1 Fil de soie de *Bombyx mori* . . . 68
3.2.2 Fil de soie d'araignée . . . 72
3.2.3 Fil de soie modifiée génétiquement . . . 73
3.2.4 Fil industriel . . . 75
3.2.5 Fil industriel décreusé . . . 79
3.2.6 Traction *in situ* en observation microscopique . . . 82
3.2.7 Test mécanique complexe . . . 83
3.2.8 Etude succincte en fatigue . . . 84
3.3 Discussion . . . 85

4 Caractérisation microstructurale **89**
4.1 Diffraction aux rayons X . . . 91
4.1.1 Diffraction aux rayons X sur films . . . 91
4.1.2 Mesures en Wide Angle X-ray Scattering . . . 95
4.2 Spectrométrie Raman . . . 99
4.2.1 La spectrométrie Raman permet une description de l'état initial . . . 99
4.2.2 La spectrométrie Raman permet une étude sous sollicitation . . . 104
4.3 Mécanique en environnement contrôlé . . . 107
4.3.1 Humidité . . . 107
4.3.2 Température . . . 108
4.4 Discussion . . . 109

5 Modélisation **111**
5.1 La mise en place du modèle . . . 113
5.1.1 Connaissances apportées par l'étude de la mécanique et de la microstructure . . . 113
5.1.2 Choix du modèle . . . 113
5.1.3 Les paramètres expérimentaux . . . 114
5.2 Identification des paramètres . . . 115
5.2.1 La recherche des paramètres . . . 115
5.2.2 La validation . . . 118
5.2.3 Les résultats sur essais complexes . . . 120
5.3 Essais en humidité . . . 121
5.3.1 Identification des paramètres . . . 121
5.3.2 La validation . . . 122
5.3.3 Exploitation des résultats . . . 122
5.4 Discussion . . . 123

6 Discussion générale **127**

Table des figures

1.1 Cycle de développement du ver à soie *Bombyx mori* . . . 5
1.2 Glandes sericigènes du *Bombyx mori* . . . 7
1.3 Méthode de filage du ver à soie . . . 8
1.4 Procédés industriels depuis le ver jusqu'au tissu . . . 10
1.5 Schéma de la production protéique . . . 11
1.6 Acide aminé et liaison peptidique . . . 12
1.7 Conformation en hélice-α . . . 13
1.8 Conformation en feuillet-β . . . 13
1.9 Diagramme de dégradation de la soie . . . 15
1.10 Schéma des cristallites de la phase cristalline de type II . . . 17
1.11 Nano- et micro-structure de la fibroïne . . . 19
1.12 Représentation récapitulative sur la microstructure . . . 20
1.13 Schéma d'une toile d'araignée . . . 22
1.14 Microstructure de la soie d'araignée . . . 24
1.15 Proposition de modèle . . . 34

2.1 Organisation du transposon Piggybac servant à la modification génétique . . . 41
2.2 Cinétiques de décreusage . . . 43
2.3 Réseau observé en microscopie électronique pour étalonnage . . . 44
2.4 Machine de traction : Universal Fibre Tester . . . 45
2.5 Schématisation des essais mécaniques . . . 47
2.6 Courbes de relaxation et de fluage . . . 47
2.7 Essais mécaniques complexes . . . 48
2.8 Essais d'absorption - désorption du fil industriel . . . 49
2.9 Schématisation de la diffraction aux rayons X . . . 50
2.10 Schématisation de la spectrométrie Raman . . . 52
2.11 Représentation schématique du modèle analogique appliqué pour la soie . . . 53

3.1 Observation d'un cocon de ver à soie . . . 58
3.2 Observation d'un fil de ver à soie . . . 58
3.3 Observation longitudinale de fil industriel . . . 59
3.4 Observation de sections de fils industriels . . . 59
3.5 Observation d'un cocon de ver génétiquement modifié . . . 60
3.6 Observation de fil de soie d'araignée . . . 60
3.7 Observation microscopique d'une section de cocon . . . 61
3.8 Observation d'une fibre de soie en lumière polarisée . . . 61
3.9 Dénombrement des fils industriels en fonction de leur section . . . 63
3.10 Observation microscopique de faciès de rupture de fibres de soie . . . 64
3.11 Observation de faciès de rupture engendrés par des défauts visibles . . . 64
3.12 Observation de rupture de la gaine de séricines . . . 64
3.13 Schématisation d'une rupture . . . 65
3.14 Observation de faciès de rupture de fil industriel . . . 65
3.15 Courbe de traction typique d'une fibre de soie de *Bombyx mori* . . . 68
3.16 Courbe de traction cyclique d'une fibre de soie de *Bombyx mori* . . . 70
3.17 Variabilité d'une fibre de soie de *Bombyx mori* . . . 71

3.18 Courbe de traction typique d'une fibre d'araignée *Nephila madagascariensis* 72
3.19 Courbe de traction typique d'un fil de soie de *Bombyx mori* génétiquement modifié 73
3.20 Courbe de traction typique d'un fil industriel 75
3.21 Déformation irréversible observée lors d'essais de recouvrance 77
3.22 Evaluation de la viscosité du fil industriel 77
3.23 Endommagement observé lors d'essais cycliques 78
3.24 Décomposition d'un fil industriel en fibres unitaires 80
3.25 Comparaison entre le fil industriel décreusé et ses brins 80
3.26 Déformation irréversible induite par une traction cyclique avec recouvrance 81
3.27 Observation d'une traction *in situ* pendant observation en microscopie électronique 82
3.28 Evolution de la densité de fissures sous traction 82
3.29 Essais mécaniques complexes 83
3.30 Résultats des essais mécaniques complexes 83
3.31 Essais de fatigue 84
3.32 Comportement mécanique de la fibroïne sous forme de fibre 85
3.33 Schématisation longitudinale d'une fibre de fibroïne 86
3.34 Schématisation des connaissances apportées par la mécanique 87

4.1 Diffraction aux rayons X sur film de brins de fibroïne 91
4.2 Observations et résultats en diffraction aux rayons X 92
4.3 Extraction d'une courbe d'intensité pour la glande et le fil industriel, évolution du pic 200 93
4.4 Evolution du degré d'orientation en fonction de l'angle 2θ 94
4.5 Carte des résultats obtenus en diffraction aux rayons X par WAXS 95
4.6 Résultats obtenus en diffraction aux rayons X par WAXS 96
4.7 Résultats obtenus en diffraction aux rayons X par WAXS, cas du fil industriel 97
4.8 Spectre Raman normalisé d'un brin de fil industriel 99
4.9 Réponse en spectrométrie Raman en fonction de l'orientation 100
4.10 Effet de l'orientation des fibres par rapport au LASER sur le pic des amides 100
4.11 Spectre Raman d'un brin extrait d'un cocon de *Bombyx mori* 101
4.12 Variation de microstructure le long de la fibre 102
4.13 Séparation des pics relatifs aux amides 102
4.14 Zone analysée pour l'étude en spectrométrie Raman avec traction *in situ* 104
4.15 Déplacement normalisé des pics importants de la zone analysée en fonction de la déformation . . 105
4.16 Déplacement en nombre d'onde du pic représentatif de la liaison simple du carbone en fonction de la déformation 105
4.17 Représentation graphique du déplacement en nombre d'onde en fonction de la contrainte globale 106
4.18 Courbes de traction de fils industriels décreusés à 50%RH et 100%RH 107
4.19 Evolution des énergies pendant une traction monotone pour différents taux d'humidité 107
4.20 Evolution du module initial du fil industriel en fonction de la température 108
4.21 Etat microstructural de la fibroïne avant et après filage 109
4.22 Mécanismes microstructuraux induits lors d'une traction d'une fibre de fibroïne 110

5.1 Représentation analogique du modèle choisi 114
5.2 Représentation des couples de paramètres, E_m et τ, permettant un ajustement de la viscosité . . . 115
5.3 Ajustement du module initial de la branche élasto-plastique 116
5.4 Recherche des paramètres de plasticité 116
5.5 Recherche des paramètres du modèle de Maxwell 117
5.6 Validation sur les essais de traction monotone 118
5.7 Validation sur les essais de charge-décharge 119
5.8 Identification des paramètres par les essais complexes 120
5.9 Validation des paramètres pour les essais complexes 120
5.10 Identification des paramètres du modèle pour la condition en humidité saturante 121
5.11 Validation des paramètres sur les essais complexes pour une humidité saturante 122

Liste des tableaux

1.1 Quelques acides aminés importants pour la soie . . . 12
1.2 Composition en acides aminés de la chaine lourde de fibroïne . . . 14
1.3 Caractéristiques en diffraction aux rayons X de la maille de la phase cristalline de type II . . . 16
1.4 Caractéristiques en résonance magnétique de la maille de la phase cristalline de type I et II . . . 17
1.5 Classification des principales espèces d'araignées étudiées . . . 22
1.6 Glandes de la soie d'araignée *Nephila* . . . 22
1.7 Composition en acides aminés de la soie 'ampullate' majeure . . . 22
1.8 Dimensions de la maille cristalline de soie 'ampullate' majeure . . . 23
1.9 Proportion des nanostructures présentes dans la soie d'araignée . . . 24
1.10 Fonctions et applications envisagées de la soie dans le biomédical . . . 28
1.11 Caractéristiques mécaniques de la fibre de soie . . . 31
1.12 Caractéristiques mécaniques de la fibre de soie en humidité . . . 31
1.13 Caractéristiques mécaniques de la soie artificielle . . . 31
1.14 Caractéristiques mécaniques de soie décreusée . . . 31
1.15 Caractéristiques mécaniques de la MaSp chez *Nephila* . . . 32
1.16 Caractéristiques mécaniques de la MaSp chez *Araneus* . . . 32
1.17 Caractéristiques mécaniques de la MaSp chez *Argiope* et *Latrodectus* . . . 32

2.1 Calculs d'erreur . . . 46
2.2 Mesures des facteurs de transmission . . . 51

3.1 Valeurs de section des différents types de soie . . . 62
3.2 Evolution de la morphologie du fil au sein du cocon . . . 66
3.3 Evolution des propriétés le long de la fibre . . . 69
3.4 Caractéristiques mécaniques de cocons de ver à soie de *Bombyx mori* . . . 71
3.5 Variabilité inter- et intra-cocons pour les vers modifiés génétiquement . . . 73
3.6 Impact de la modification génétique sur les propriétés mécaniques . . . 74
3.7 Propriétés mécaniques du fil industriel . . . 75
3.8 Impact de la longueur de jauge sur les propriétés mécaniques . . . 76
3.9 Impact de la vitesse de déformation sur les propriétés mécaniques . . . 77
3.10 Caractéristiques mécaniques du fil industriel décreusé . . . 79

4.1 Degré d'orientation pour différents cas théoriques . . . 93
4.2 Correspondance des distances inter-atomiques avec les plans cristallins proposés . . . 95
4.3 Propriétés microstructurales du fil industriel . . . 97
4.4 Propriétés microstructurales du fil de *Bombyx mori* . . . 98

5.1 Paramètres identifiés du modèle . . . 119
5.2 Paramètres identifiés du modèle pour la condition humide . . . 122
5.3 Comparaison des paramètres selon la condition atmosphérique . . . 123

Introduction

Cette thèse aborde la problématique de la compréhension du lien qui existe entre mécanique et microstructure, ceci pour un matériau naturel de type fibre qu'est la soie. Ce projet a été réalisé dans le cadre de l'ANR-07-BLAN-0276, intitulée *Nanosoie*.

La soie est un terme générique qui englobe plus largement différents types de soie. En effet, de la soie est produite par un grand nombre d'animaux. Ces travaux abordent d'ailleurs de la soie de *Bombyx mori* sous différentes formes et de la soie d'araignée. Il sera considéré comme 'soie' les différentes formes de la soie (fibre, fil unique, fils multiples, etc...), en considérant l'ensemble de ses constituants, produites par le *Bombyx mori*. Un descriptif plus précis est établi dans la partie 'Matériaux et méthodes', le lecteur pourra s'y référer si nécessaire. L'utilisation du terme 'soie' pour la soie d'araignée ou obtenue par modification génétique sera explicitée à chaque fois.

Parmi le grand nombre de protéines fibreuses animales [Gosl 02], la soie fait partie après la laine des plus utilisées. Elle est produite par une chenille (appelée ver), du *Bombyx mori*, qui l'utilise pour former un cocon dans lequel elle se chrysalide. Son utilisation commence il y a très longtemps, et malgré ceci, son utilisation en industrie reste relativement empirique. Bien que l'attrait pour ce polymère n'ait fait que croître depuis ces dernières décennies, sa compréhension reste limitée. En effet, la soie est un matériau d'étude privilégié de part ses propriétés mécaniques intéressantes. Elle est ainsi sujette à un biomimétisme qui stimule la recherche [Guan 07] [Qiu 09] [Liu 10].

Le comportement mécanique de la soie peut s'étudier à l'échelle macroscopique, mais son entière compréhension passe par les plus petites échelles que sont la nano- et micro-structure. Ces travaux se basent donc sur une étude multi-échelle du matériau pour approfondir les connaissances et apporter un point de vue scientifique aux procédés industriels.

Après une étude approfondie du comportement mécanique des différents types de soie, la microstructure a été analysée pour comprendre les différences qui existent à l'échelle macroscopique. Deux cas sont alors abordés, le fil industriel qui consiste en un assemblage de fils extraits de cocons et le fil issu d'un organisme modifié génétiquement par l'Unité Nationale Séricicole (UNS) en incorporant un fragment d'information génétique de l'araignée dans le génome du *Bombyx mori*. Il a également été possible d'associer différentes techniques d'observation avec une traction mécanique. Ainsi, des tractions ont été effectuées sous microscopie électronique et spectrométrie Raman, ce qui permet d'aborder la microstructure dans un environnement dynamique. Enfin, la modélisation permet de finaliser la compréhension et notamment d'étudier le comportement en environnement contrôlé en humidité, données encore trop complexes à analyser par la microstructure.

Cette thèse se veut pédagogique et basée sur l'interdisciplinarité. Les aspects biologiques, physiques, microstructuraux et numériques ont donc été pris en compte.

Ils s'articulent autour de cinq chapitres :

- Chapitre 1 : étude bibliographique approfondie portant sur les connaissances relatives à la soie, son utilisation par l'industrie et les principales applications actuelles et futures. Les connaissances portent sur la composition et la microstructure des soies de *Bombyx mori* et d'araignée, mais également sur ses propriétés physiques notamment en mécanique.
- Chapitre 2 : ce chapitre décrit exhaustivement les matériaux utilisés pendant l'étude ainsi que les techniques et instruments employés pour obtenir les résultats décrits dans cet ouvrage.
- Chapitre 3 : étude morphologique et mécanique de tous les types de soie étudiés. L'étude morphologique s'est basée sur les techniques d'observation en microscopie optique et électronique ainsi que l'analyse d'image. L'étude mécanique a exploité les qualités de l'Universal Fibre Tester afin d'analyser le comportement mécanique des fibres.
- Chapitre 4 : étude microstructurale des soies en utilisant les méthodes thermiques, de diffraction aux rayons X et de spectroscopie Raman afin de caractériser leur état à l'échelle nanoscopique. Une expérience combinée de traction mécanique et d'observation en spectrométrie Raman a permis d'étudier le lien entre la microstructure et le comportement mécanique.
- Chapitre 5 : application numérique des avancées effectuées. Un modèle simple et robuste est proposé, il permet de corréler correctement le comportement mécanique et d'émettre des hypothèses quand au changement de comportement en environnement contrôlé.

Chapitre 1

Contexte de la thèse

Sommaire

1.1 Histoire et généralités **5**
1.2 De la synthèse à la production de soie de *Bombyx mori* **7**
1.2.1 La production de soie par le ver 7
1.2.2 Les procédés industriels 9
1.3 Microstructure de la soie de *Bombyx mori* **11**
1.3.1 La production du fil de soie 11
1.3.2 La microstructure 15
1.4 Autres matériaux **21**
1.4.1 La soie d'araignée 21
1.4.2 Les autres sources de soie 25
1.4.3 La soie régénérée 25
1.5 Applications **27**
1.5.1 Textile et technique 27
1.5.2 Biomédical 27
1.5.3 Autres possibilités 28
1.6 Caractérisation **29**
1.6.1 Le comportement mécanique 29
1.6.2 Les autres caractérisations 33
1.6.3 Le lien microstructure / comportement 33
1.7 Conclusions **36**

Les matériaux polymères peuvent se caractériser en deux grandes familles selon leur origine : les polymères d'origine pétrochimique et les polymères bio-sourcés. Cette classification se base sur la provenance de la matière première. Il s'agit, par l'utilisation de matériaux bio-sourcés, de mettre au point de nouvelles matières premières pour la fabrication de matériaux polymères afin de réduire la dépendance au pétrole (même si la part de la pétrochimie n'est que d'à peine 3% d'un baril[1]) ; et de trouver de nouvelles propriétés innovantes grâce à l'infinie richesse du vivant. Cette classification ne prend donc pas en compte les propriétés du matériau qui peuvent être développées. Celles-ci ne sont d'ailleurs pas spécifiques à chaque famille. Les matériaux bio-sourcés peuvent être séparés en trois catégories : les polymères naturels (Exemple : cellulose, soie, chitine) ; les polymères issus de la biotechnologie (Ex : cellulose bactérienne) ; et les polymères synthétiques (Ex : acide poly-lactique) [Kimu 09].

Le marché des fibres n'est qu'une part de ce domaine des matériaux polymères. Et c'est au sein de ce marché que l'on retrouve les fibres naturelles, et la soie. Les fibres naturelles peuvent être des saccharides comme la cellulose chez les végétaux (coton, sisal, lin, etc...) ou la chitine chez les arthropodes, ou des protéines comme la laine (kératine) ou la soie. La soie se retrouve chez de nombreux animaux dans la classe des insectes tels que les lépidoptères (papillons), les hyménoptères (abeilles) ou d'autres ordres d'insectes, la classe des arachnides (araignées), et d'autres groupes d'animaux (mollusques) [Kame 10]. La soie fait plus largement partie des protéines fibreuses. Les protéines fibreuses ont un rôle essentiel pour la mobilité, la structure et la protection à l'échelle cellulaire, tissulaire, jusqu'à l'échelle des organismes. Cependant, malgré de nombreuses recherches, les mécanismes d'assemblage ainsi que la structure de tels matériaux restent incomplètement connus. Et pourtant, les performances mécaniques notamment, sont très intéressantes. Elles présentent donc un potentiel énorme en tant qu'applications techniques et médicales [Sche 05][Hear 07][Mala 07].

L'étude bibliographique compte témoigner de l'état actuel des recherches sur la fibre de soie et montrer une vue exhaustive des domaines d'applications. Quelques revues retracent les recherches dans ce domaine [Mond 07] [Hard 08], une approche personnelle sera développée ci-dessous.

[1] Site internet de la CNUCED (*www.unctad.org*) et de l'IFP (*www.ifp.fr*)

1.1 Historique et généralités : depuis la *Route de la soie* jusqu'à nos jours, coup d'œil sur les applications *via* les filières et les débouchés

Il sera traité dans cette partie de l'historique, des méthodes, des produits, et des applications relatives à la soie. Une étude de marché globale montrera la consommation de la fibre de soie à l'échelle mondiale en comparaison avec les autres fibres synthétiques ou naturelles.

Historique

L'élevage du ver à soie, la sériciculture, aurait commencé 5000 à 6000 ans avant Jesus Christ en Chine. Selon Confucius, la découverte de la soie remonterait à 2640 ans avant J.C.. La légende veut que ce soit une princesse chinoise, Xi Lin Shi, qui découvrit la soie en voyant tomber un cocon dans sa tasse de thé. Elle découvrit alors que le cocon était constitué d'un long filament continu, c'était le premier cocon dévidé. La technique de la soie fut secrètement gardée jusque 1200 ans avant J.C. où cette technologie a été introduite en Corée puis au Japon ; puis en 140 avant J.C. en Inde. Le commerce des étoffes est alors implanté dans l'empire Byzantin et au moyen orient au travers de la *Route de la soie* et atteint l'Europe au premier siècle avant J.C. au sein de l'empire romain. La production européenne à proprement parler a commencé après 1060 à Lucca, en Italie, en important la technologie de Sicile et de Byzance. La production s'est ensuite propagée à Florence, Bologne, Gêne et Venise au cours du XIIIe siècle. C'est au début du XVe siècle que la production arrive en France, en Avignon, puis à Tours et surtout Lyon qui deviendra la capitale européenne du marché de la soie jusqu'au milieu du XIXe siècle où le déclin commence [Jauz 09] [Fran 01].

L'espèce originelle du ver à soie utilisée est le ver à soie sauvage *Bombyx mandarina* qui donna par domestication le *Bombyx mori*. Alors que les rendements actuels arrivent à des cocons produisant plus de 1600m de fil, les cocons, à l'origine, devaient produire entre 100 et 150m. C'est au fil d'une sélection poussée que l'homme a su domestiquer le ver à soie obtenant un ver peu mobile, et un papillon incapable de voler et donc de se reproduire sans l'aide de l'homme.

Production industrielle

Le cycle de développement du *Bombyx mori* se décompose en plusieurs phases : l'œuf ; les stades larvaires ; le stade nymphal ; et l'adulte. Ces quatre phases sont séparées par des mues et la métamorphose de la chrysalide pour donner le papillon. Les phases larvaires durent une vingtaine de jours et sont constituées de 5 stades séparés par des mues. Ces mues permettent une augmentation du volume du ver et la continuité de la croissance. La métamorphose dure, quant à elle, une dizaine de jours et permet une réorganisation de la chrysalide dans le cocon pour former le papillon. Au stade adulte, les individus cherchent à se reproduire pour pondre et permettre un nouveau cycle. Ce cycle est présenté en figure 1.1.

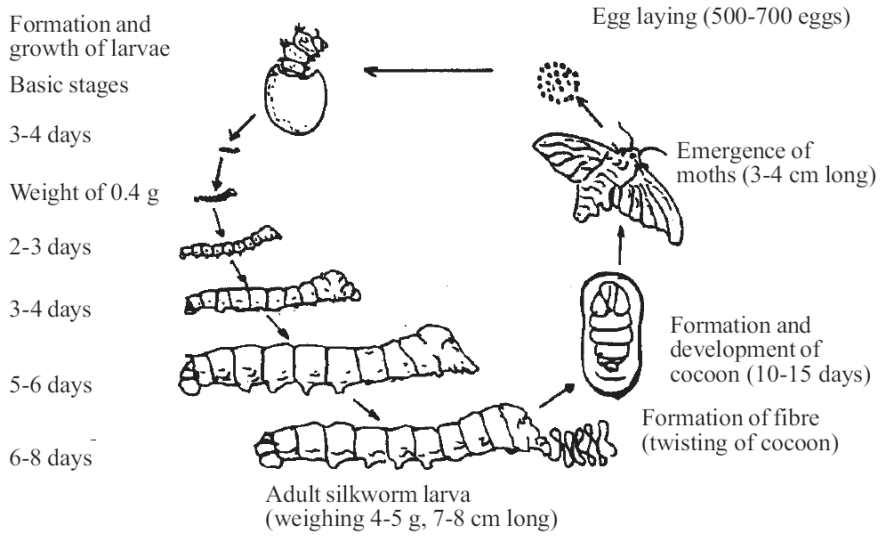


FIG. 1.1 – Cycle de développement du ver à soie *Bombyx mori*, race Nistari Polyvoltin [Pere 07]

Pour la production de cocons, les vers sont disposés sur des claies que l'on recouvre de feuilles de murier. En effet, les vers de *Bombyx mori* se nourrissent exclusivement de ce type de végétation. Ils peuvent ainsi croître de manière optimale. Arrivés au cinquième stade, ils sont déplacés dans des dispositifs appropriés pour faciliter la production de leur cocon. Les cocons sont alors récoltés par le sériciculteur qui les livre à la filature. Dès réception, après contrôle, les cocons sont étuvés pour tuer la chrysalide et éviter quelle ne se transforme en papillon. En effet, pour sortir, ce dernier percerait le cocon et couperait le fil continu dont il est constitué. Les cocons peuvent être alors stockés.

Les cocons sont ensuite plongés dans l'eau chaude, permettant un décollement du fil et le dévidage de plusieurs cocons ensembles. Le regroupement des fils permet à l'industrie de mieux contrôler le diamètre moyen de son produit car ceux-ci ne sont pas homogènes dans la longueur, et de s'assurer du moyennage des caractéristiques mécaniques du fil industriel limitant les ruptures dues au défaut d'un des fils. Le fil est appelé alors fil de soie grège car il comporte encore une gaine protectrice. Ce fil subit ensuite l'étape de moulinage et d'ourdissage avant d'être tissé, voir la figure 1.4. Le décreusage qui consiste à retirer la gaine peut se faire avant ou après tissage selon le type d'industrie. Il y aura pour finir l'étape de teinture qui permet une coloration du produit.

Le marché de la soie

La production industrielle mondiale de fibres textiles et techniques s'élève à 70.10^6 tonnes. Les deux tiers concernent les fibres synthétiques dont notamment la fibre de polyester (70% du marché). Le troisième tiers représente les fibres naturelles avec notamment le coton, le jute, la laine et la soie qui forment 90% du marché [Buns 09]. Le marché mondial de la soie s'élève environ à 120 000 tonnes de soie grège produite, en 2008, dont les principaux producteurs sont la Chine et l'Inde, loin devant le Brésil et la Thailande[2]. Ce marché représente une part infime du marché des fibres uniquement textiles puisqu'il compte pour moins de 0,2% [Fran 01].

Origine de la soie de l'étude

La France a importé, en 2009, 111 tonnes de soie grège, il n'existe en effet plus de production de soie locale. Mais il persiste un savoir faire reconnu dans la transformation de la soie incarné par un tissu industriel constitué d'une quarantaine d'entreprises de moulinage, de tissage et d'ennoblissement (teinture, impression, apprêt) regroupées au sein de l'Association INTERSOIE FRANCE. Nous nous sommes associés dans ce projet au groupe français Perrin et fils qui fournit des sociétés du secteur du luxe. Cet industriel nous a notamment généreusement approvisionné en soie industrielle. Il peut être précisé que leur fournisseur de matière première est brésilien.

[2]Site internet de la commission internationale sericicole (*www.inserco.org*)

1.2 De la synthèse à la production de soie de *Bombyx mori*

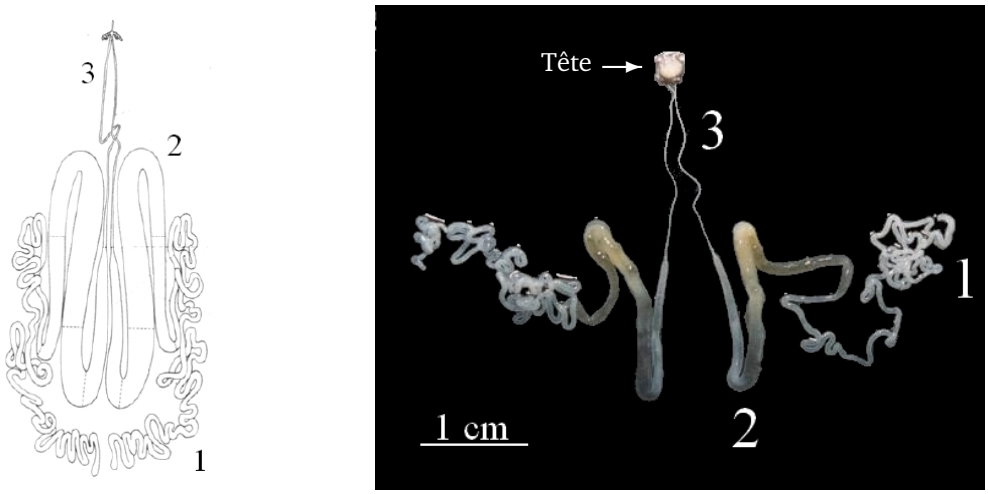
La soie est un fil constitué de deux brins enrobés dans une gaine. L'ensemble du système est constitué de protéines. On peut considérer de prime abord que les brins sont constitués de fibroïne et que la gaine, aussi dénommée grès, est composée de séricines. Une image plus précise sera décrite dans cette partie sur la composition chimique de la soie. Il y est également décrit le procédé de filage depuis la synthèse jusqu'à la filière, et l'utilisation de ce fil par l'industrie.

1.2.1 La production de fibre par le *Bombyx mori*, aspects physiques et physiologiques

La production du fil de soie par le ver consiste en une synthèse protéique suivi d'un stockage ; puis du filage du gel pour former le fil et confectionner le cocon.

Les glandes

La soie, de nature protéique, est synthétisée par deux glandes dites sericigènes, symétriques, ouvertes vers l'extérieur par la filière. Ces glandes sericigènes peuvent être divisées en trois parties distinctes : postérieure (Diamètre (∅) : ∼0,5mm, ∼200mm de long) ; moyenne (∅ : ∼1 à 5mm, ∼60mm de long) ; et antérieure (Section : ∼1800μm^2, ∼35mm de long) [Pere 07]. Elles sont constituées de cellules exocrines pouvant synthétiser puis sécréter hors de la cellule le produit de leur synthèse dans la lumière. La partie postérieure synthétise la fibroïne. La partie moyenne qui peut elle-même être subdivisée en trois sections produit trois types de séricines qui vont envelopper la fibroïne précédemment produite. La soie se présente donc comme un coaxial dont la partie centrale est composée de fibroïne et la partie externe de séricines. La dernière partie, antérieure, ne produit quant à elle aucune protéine, elle est recouverte d'une fine cuticule (paroi protectrice). Il ne s'agit que d'un conduit menant à la partie finale que forme la filière, voir figure 1.2[3].



(a) (b)

FIG. 1.2 – Les glandes sericigènes du *Bombyx mori* (1 : postérieure, 2 : moyenne, 3 : antérieure), (a) vue schématique [Asak 07a], (b) vue macroscopique

Les cellules sécrétrices de fibroïne ne se divisent plus après le stade embryonnaire, elles ne vont donc, pendant le stade larvaire, qu'augmenter de volume pour atteindre plus d'un millimètre de diamètre, ce qui est extrêmement important pour une cellule, même eucaryote. Au 4e et 5e stade larvaire, le matériel génétique (Acide DésoxyriboNucléique et Acide RiboNucléique) va être multiplié par polyploïdisation ; puis, pendant le 5e et dernier stade une partie de ce matériel génétique, les ARN, va être transporté dans le cytoplasme. La production de fibroïne commence. Pendant ce 5e stade, le réticulum endoplasmique rugueux va également s'accroitre permettant au matériel génétique présent dans le cytoplasme d'être traduit pour former la protéine.

[3]Photographie de Bernard Mauchamp, UNS

Les amas de fibroïne vont être transférés dans l'appareil de Golgi puis dans des globules pour être expulsés par exocytose dans la lumière. Des structures hélicoïdales de 13nm de largeur sont alors observables. Cette synthèse et exportation prend environ une heure à la cellule. Cela résulte en la formation de massifs globuleux de fibroïne de 1μm de diamètre dans la lumière formant une solution de fibroïne. Ces globules vont réduire en passant dans la glande moyenne par déshydratation, où ils vont être stockés. Aucun alignement des macromolécules n'est observable à ce moment.

Le même processus de synthèse peut être observé au niveau de la glande moyenne pour les séricines. Les séricines sont expulsées des cellules par des globules d'environ 200-300nm de diamètre. Les trois types de séricines se caractérisent par des variations de texture entre les deux premières et de propriétés pour la troisième et dernière, celle-ci étant plus lipidique par l'adjonction de fonctions lipophiles [Akai 83].

Les glandes sont reliées à une filière de près de 1mm de long présentant un diamètre de section décroissant de 100 à 50μm. La première partie de la filière est entourée par deux lames de cuticules, dorsale et ventrale, le tout entouré de quatre muscles permettant une pression contrôlée du gel pendant le filage [Asak 07a].

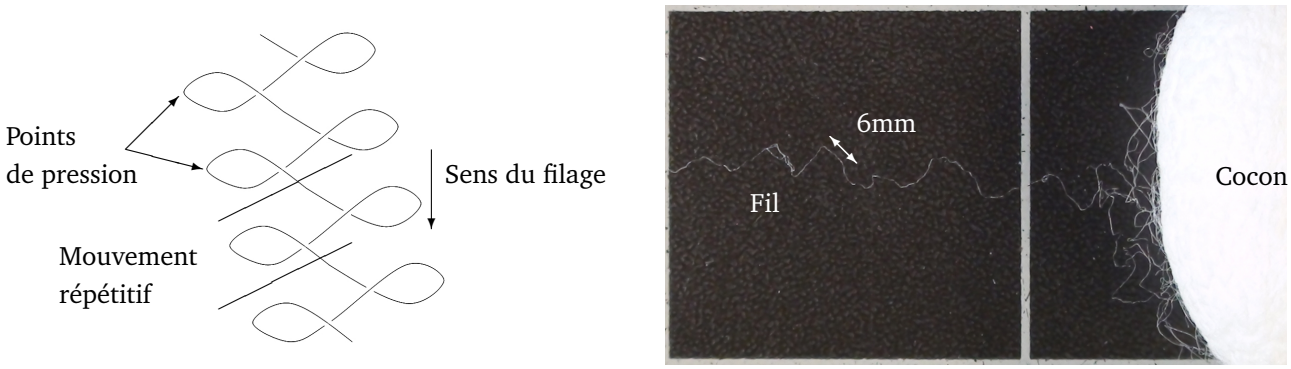
La production protéique

La production protéique des glandes est bien connue. Deux méthodes permettent d'étudier le protéome (ensemble des protéines d'une cellule) : il peut s'agir d'étudier la composition en ARN, messager intermédiaire entre l'information génétique (génome) et la production protéique [Mita 04] [Tang 07] ; ou d'analyser la composition des protéines produites par électrophorèse 2-D et spectrométrie de masse [Wu 07] [Hou 07]. Ceci a été effectué pour les deux parties actives des glandes séricigènes, la partie postérieure et moyenne. Il en résulte la production au niveau de la partie postérieure de trois protéines formant la fibroïne : la chaine lourde et la chaine légère de fibroïne, et une glyco-protéine appelée fibrohexamerin/P25. Au niveau de la glande moyenne, il y a production d'un ensemble de protéines formant le grès [Toku 80] [Taka 07].

Le filage, mécanique et physiologie

Contrairement aux fibres synthétiques, les organismes vivants sont capables de produire des fibres à température ambiante grâce à un contrôle précis du taux d'hydratation ainsi que des conditions ioniques [Zhou 05] et du pH [Wong 06] [Mats 08]. Les concentrations ioniques de Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cu^{2+} et Zn^{2+} sont donc contrôlées le long des glandes séricigènes. Ce qui permet de contrôler l'état du gel, et de moduler la structure (conformation) des protéines constitutives et éviter une solidification prématurée. Ces échanges ioniques et aqueux permettent un contrôle de la viscosité du fluide et donc de l'écoulement et des phénomènes de cisaillement pendant l'extrusion [Mori 08]. Ceci résulte en la formation de la nano- et micro-structure du matériau au cours du filage. C'est cet ensemble de conditions qui résulte en les propriétés intrinsèques conférées à la soie.

Pendant le filage, le ver effectue un mouvement en huit provoquant des conditions de filage irrégulières. Contrairement à l'araignée qui maintient une contrainte continue, le ver impose des tractions et compressions sur le fil. En effet, il prend soin à fixer le fil sur des points alternatifs de part et d'autre de la tête en étirant le fil entre chaque. Ce phénomène est parfaitement perceptible au dévidage puisque chaque point de fixation se détache successivement, voir figure 1.3. Cette méthode de filage provoque une hétérogénéité longitudinale et des défauts qui seront discutés ultérieurement.



(a) (b)

FIG. 1.3 – Méthode de filage du ver à soie, (a) schématisation du filage, (b) observation du fil extrait d'un cocon

Le ver commence par mettre en place des fils de soutien (blazes) dans l'encabanage où il va faire son cocon ; il file celui-ci de l'extérieur vers l'intérieur. Le cocon est relativement homogène mais les soies externes (blazes) et internes (pélettes), sont différentes et ne sont pas utilisées pour produire du fil de soie grège. Au cours du filage, le ver peut exercer des pressions avec sa tête pour déformer le cocon afin d'adapter sa forme. Il y a donc des contraintes appliquées pendant le filage du cocon. La forme du cocon et la méthode de filage sont caractéristiques de chaque race [Kiyo 99].

1.2.2 Le tissage et le décreusage industriel

A partir de ce fil, l'industrie met en place des procédés complexes pour arriver au produit transformé, voir figure 1.4 [4]. Les avancées technologiques sont restées principalement empiriques ce qui explique le manque de connaissance des propriétés mécaniques du fil de soie et de l'impact de l'historique, du vieillissement, et des conditions environnementales sur sa microstructure et son comportement.

Dès le dévidage, le cocon et donc le fil, sont placés dans un bain d'eau chaude, ce qui revient à un apport d'eau et une élévation de la température. Associé à cela, une torsion variable, de 100 à 2800 tours par mètre, est appliquée en fonction du fil à réaliser. Ensuite, pendant le tissage et la transformation, le fil est exposé à des conditions changeantes de température et d'humidité sous contraintes (historique d'humidité, de température et de contraintes). Enfin, le décreusage et la teinture vont nécessiter des bains dans des solutions chimiques, acides ou basiques [Soma 97] [Soma 98].

Historiquement, le décreusage se faisait simplement avec de l'eau savonneuse. Depuis, l'industrie utilise des solutions chimiques complexes et surtout extrêmement confidentielles pour réduire le temps et l'énergie nécessaire au décreusage tout en préservant au mieux les propriétés. Au niveau de la recherche, des études ont porté sur les différents moyens de retirer la gaine en évaluant l'altération éventuelle qui en résulte [Prez 02]. Ainsi, différentes techniques chimiques ou ioniques ayant pour but la dénaturation des protéines du grès en vue de leur solubilisation ont été proposées telles que respectivement l'urée et le carbonate de sodium [Jian 06] ; tout ceci comparé à la simple eau distillée portée à ébullition. Les conclusions montrent que le tampon de borate semble altérer le moins les propriétés. L'altération des propriétés sera discutée ultérieurement car le grès était considéré jusqu'alors comme négligeable quant à ses propriétés mécaniques. Seulement, il se pourrait que l'altération des propriétés soit due à la perte de cette gaine. D'autres méthodes de décreusage ont été proposées telle que le décreusage enzymatique [Fred 03], qui est utilisé dans l'industrie.

[4] Photographies de Jacques Poulenard, *Perrin & fils*

FIG. 1.4 – Procédés industriels : le ver est alimenté en feuille jusqu'à son dernier stade (a), il produit alors son cocon (b) qui est dévidé, associé à d'autres cocons, pour former la flotte (d). Cette flotte est mouillée, les fils sont réunis et tordus pour réaliser des fils de chaine et de trame enroulés sur des cônes lors des opérations de moulinage (c) puis les fils de chaine sont disposés en nappe de fils parallèles et tendus lors de l'ourdissage (e) pour être tissés par croisement avec les fils de trame, ici sur un métier Jacquard (f)

1.3 La synthèse biologique justifie l'état microstructural

La microstructure est une propriété intrinsèque à tout matériau. Celle-ci peut s'expliquer par la nature même du matériau comme par ses procédés de mise en forme. Elle va être ici décryptée pour le cas de la soie chez le *Bombyx mori*.

1.3.1 La production du fil de soie

A partir de la séquence génétique, il est possible de connaître avec exactitude la composition chimique du matériau produit par l'organisme. Cette composition va résulter en une nano- et une micro-structure stable que nous allons étudier ici.

1.3.1.1 Informations générales sur la conformation protéique

Production protéique

Les cellules possèdent leur information au niveau du noyau sous forme d'acide désoxyribonucléique (ADN). L'ADN est une suite de bases codant pour des acides aminés. L'unité d'information étant le triplet, trois bases (codon) permettent de coder l'ensemble des 20 acides aminés possibles (et même plus, donc plusieurs combinaisons codent pour le même acide aminé, c'est la redondance du code génétique). Pour la production protéique, la cellule va utiliser son ADN et le transcrire en ARN, molécule plus petite reflétant exactement la même information mais seulement pour le gène d'intérêt. Cette molécule plus petite peut ainsi être transportée du noyau vers le cytoplasme. Cette molécule est composée de deux types de segments : les introns ont été transcrits mais ne seront pas traduits ; et les exons seront quant à eux traduits. C'est au niveau du cytoplasme que les ARN sont traduits en une séquence d'acide aminé, la protéine. Ceci se produit, dans le cas de la soie, entre le cytoplasme et le réticulum endoplasmique granuleux, digitation de la double membrane du noyau qui est recouverte de ribosomes, organites (élément fonctionnel cellulaire) de la traduction. La traduction dans le réticulum endoplasmique (qui est une des voies de synthèse) permet des fonctionnalisations ainsi que l'exocytose. Ainsi, les protéines produites sont véhiculées vers l'appareil de Golgi par vésicules puis expulsées vers l'extérieur de la cellule. Les déplacements des vésicules sont permis par le cytosquelette, voir la figure 1.5.

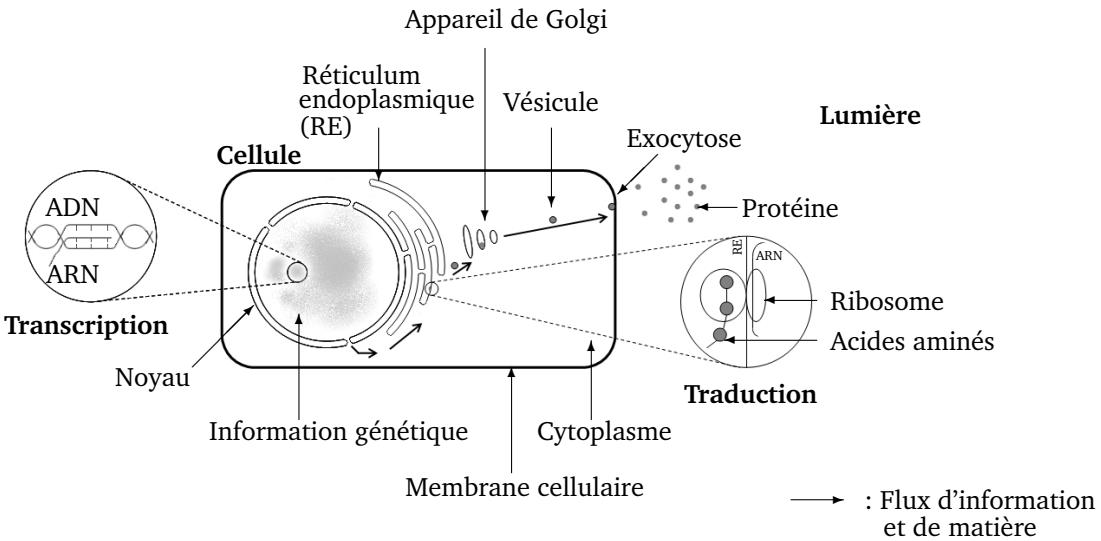
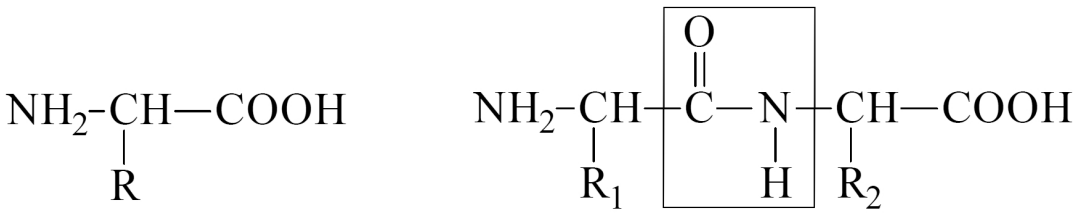


FIG. 1.5 – Schéma de la production protéique

Les acides aminés

La brique élémentaire à la base des macromolécules protéiques est l'acide aminé, voir la figure 1.6(a). Cette molécule s'articule autour d'un carbone central α associé à un hydrogène, un groupement amine, un groupement acide carboxylique et un radical (ou résidu) variable. La nature et les propriétés chimiques du radical peuvent être larges, elles vont définir des classifications qui peuvent s'articuler autour de l'encombrement spatial, de l'hydrophilie ou de l'hydrophobie, de la présence de fonctions chimiques particulières, etc... Quelques acides aminés importants sont schématisés dans le tableau 1.1.

Les acides aminés peuvent s'assembler entre eux par une liaison dite peptidique considérée comme proche d'une double liaison et donc sans rotation autour de l'axe, voir la figure 1.6(b). Une protéine, qui est une association d'acides aminés, est reliée par des liaisons peptidiques. Elle est donc constituée d'une suite de plans ayant la possibilité d'effectuer des rotations autour du carbone α. Cette mobilité est notamment gouvernée par l'encombrement spatial du radical mais également par les liaisons faibles qui peuvent se former.



(a) (b)

FIG. 1.6 – Formule développée d'un acide aminé (a) et d'une liaison peptidique (b), R : résidu, cadre : liaison peptidique à proprement parlé (proche d'une liaison double)

Glycine (Gly, G)	Alanine (Ala, A)	Sérine (Ser, S)	Cystéine (Cys, C)	Proline (Pro, P)
NH_2-CH—COOH H	NH_2-CH—COOH CH_3	NH_2-CH—COOH CH_2 OH	NH_2-CH—COOH CH_2 SH	NH—CH—COOH CH_2 CH_2 CH_2

TAB. 1.1 – Quelques acides aminés importants pour la soie

Structure protéique

La structure des protéines, c'est-à-dire leur conformation spatiale est usuellement subdivisée en quatre niveaux de structure :

Structure primaire :

La structure primaire est constituée de l'assemblage linéaire des acides aminés. Elle représente la séquence continue en acides aminés. Elle peut s'assimiler à la traduction directe de la séquence génétique. Son étude permet de faire un rapprochement entre différentes protéines afin de supposer leur structure à plus grande échelle. En effet, la nature des acides aminés, ainsi que leur combinaison aux voisins, peuvent justifier la structure secondaire. La classification des acides aminés en fonction de leur propriété ne sera pas expliquée dans ce présent document, ces informations sont facilement accessibles si nécessaire. Nous pouvons juste préciser, pour l'exemple, le cas d'un acide aminé soufré, la cystéine, qui présente la particularité de posséder une fonction chimique qui met en place systématiquement une liaison covalente avec une autre cystéine, cette liaison soufre-soufre est aussi appelée pont di-sulfure.

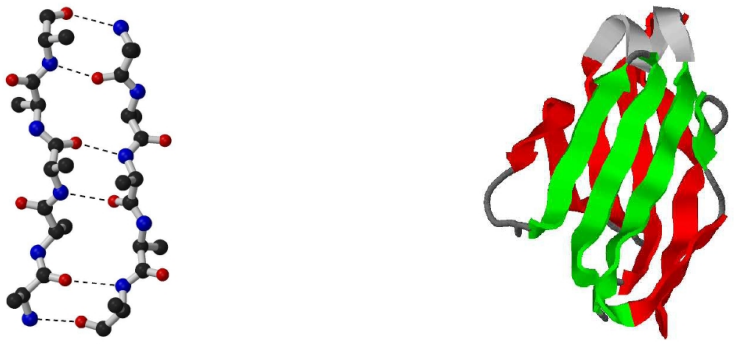
Structure secondaire :

La structure secondaire correspond aux structures spatiales observables au niveau de quelques acides aminés. Elles sont principalement au nombre de trois. Ainsi, les acides aminés peuvent se disposer en hélice (hélices-α), en feuillets (feuillets-β) ou rester dans une disposition sans réelle structure sous forme amorphe, voir figures 1.7 et 1.8 [5]. Il est intéressant de noter que les hélices-α vont se mettre en place par des interactions uniquement par voisins proches, de l'ordre de quelques acides aminés. Les feuillets-β, quant à eux, vont nécessiter des interactions avec des acides aminés relativement proches ou très lointains. Une dernière conformation usuellement moins présente mais importante dans le cas de la soie se nomme tour-β.

[5] Les exemples sont extraits du site internet de la RCSB Protein DataBank (*www.pdb.org*)

(a) (b)

FIG. 1.7 – Formule développée [Pari 05](a) et représentation en trois dimensions (b) d'un exemple d'hélice-α



(a) (b)

FIG. 1.8 – Formule développée [Pari 05](a) et représentation en trois dimensions (b) d'un exemple de feuillet-β

Structure tertiaire :

Une fois les acides aminés structurés localement, une disposition globale apparait par la limitation des degrés de liberté. Cette conformation spatiale est représentative de la protéine en question. Il est important de noter que cette conformation est relative aux conditions environnementales, présence d'eau, acidité, température... En effet, les acides aminés sont dépendants des conditions physico-chimiques. Les groupements carboxyliques et amines peuvent s'échanger un proton en fonction du pH. Le pH où la molécule n'est pas chargée à une de ses extrémités est le point isoélectrique, il est représentatif de chaque acide aminé, ceci est notamment dû aux éventuelles fonctions chimiques présentes au niveau du radical. Les variations de pH vont donc modifier les balances électroniques au sein de la molécule et donc les interactions faibles avec ses voisins. De même, la température, par agitation moléculaire va perturber la conformation spatiale jusqu'à la dénaturation de la protéine, c'est-à-dire sa désorganisation spatiale souvent majoritairement irréversible. D'autres facteurs peuvent influencer la conformation comme la constante diélectrique du milieu, etc...

Structure quaternaire :

Enfin, les protéines peuvent s'associer entre elles pour former des complexes protéiques plus larges. L'association peut se faire par des liaisons faibles hydrogènes, hydrophobes ou de Van der Waals ; ou par liaison covalente par le biais des cystéines présentes dans la protéine, acide aminé qui s'associe systématiquement par voie enzymatique à un autre acide aminé du même genre pour former un pont di-sulfure (S-S) covalent. La structure quaternaire est donc un assemblage de protéines.

1.3.1.2 Application au cas de la soie

Nous allons présenter ici l'application de cette nomenclature au cas de la soie pour les structures primaires et quaternaires, les structures secondaires et tertiaires seront développées ensuite car elles sont représentatives de la microstructure et bien plus complexes à analyser.

Structure primaire

La séquence génétique est représentative de la structure primaire. Or, l'information génétique a été décryptée pour l'ensemble du génome du *Bombyx mori*. Les données obtenues par cette information génétique peuvent être corrélées avec les bases de données d'ADN complémentaire obtenues par transcription inverse des ARN, et enfin avec le protéome. Cette information présente certes des variabilités dues à l'espèce, aux races, aux individus, et aux erreurs ; elle reste néanmoins représentative des protéines obtenues. De plus, la séquence primaire exprimée par la protéine peut être légèrement variable du fait de l'alimentation [Crai 00], car il ne faut pas oublier que les cellules sont comme de petites usines non exemptes d'erreurs. Or, l'utilisation des acides aminés est basée sur une approche statistique et est dépendante de l'approvisionnement. Cependant, à l'échelle moléculaire, la statistique converge vers une valeur moyenne, de plus, les erreurs n'acceptent pas des acides aminés avec des propriétés trop éloignées. Nous pouvons donc dire que la séquence primaire est bien connue et que les grandes lignes présentées sont cohérentes.

Dès 1955, la composition de la structure primaire est considérée connue à 98%. On sait alors que la fibroïne est composée de 44% de glycine, qui est l'acide aminé le plus simple. Plus largement, les trois acides aminés les plus simples (glycine, alanine et sérine) composent 82% de la séquence primaire selon les travaux de Tristram, 1949, voir [Mars 55].

Une méthode de dégradation est alors communément utilisée. La fibroïne de la soie est séparée en deux parties par hydrolyse enzymatique et sédimentation. On utilise une enzyme, la chymotrypsine qui hydrolyse selon sa capacité spatiale [Numa 10]. Tout ce qu'elle est en mesure d'hydrolyser l'est quelque soit la séquence d'acides aminés. Cette méthode permet de séparer les portions spatiales de la protéine accessibles à l'enzyme ou non selon leur état de structure. Les phases obtenues sont : la phase précipitée (Cp) que l'enzyme n'a pu dégrader et la phase soluble (Cs) que l'enzyme a dégradé. On observe alors que la phase précipitée, qui répond en diffraction aux rayons X, est composée d'une séquence répétitive du motif suivant [Luca 57] :

$$(\text{Gly.Ala.Gly.Ala.Gly.Ser})_9\text{.Gly.Ala.Ala.Gly.Tyr}$$

Où Gly, Ala, Ser et Tyr représentent respectivement les acides aminés glycine, alanine, sérine et tyrosine. D'autres séquences moins répétitives sont également décrites [Gedd 69]. Cette fraction précipitée représente 60% de la masse [Shaw 64] ou 55% des acides aminés [Shim 83], selon les sources, de la fibroïne.

Le problème, c'est que cette représentation est insuffisante car en réalité la fibroïne n'est pas composée que d'une protéine mais de trois : la chaine lourde de 350kDa, la chaine légère de 25kDa et un facteur appelé P25 de 25kDa [Shim 83] [Zhou 00]. La composition peut alors être décrite plus justement et précisément par le tableau 1.2.

acide aminé	[Shim 83]	[Fedi 03]
Glycine (Gly, G)	49,4%	47,4%
Alanine (Ala, A)	29,8%	31,2%
Serine (Ser, S)	11,3%	12,1%
Tyrosine (Tyr, Y)	4,6%	5,2%
Valine (Val, V)	2,0%	1,6%*
Autres	2,9%	2,0%

TAB. 1.2 – Composition en acides aminés de la chaine lourde de fibroïne selon [Shim 83] et [Fedi 03], * : plus leucine et isoleucine

Des études sur l'ADN complémentaire ainsi que la description complète du génome, respectivement par Mita en 1994 [Mita 94] et Zhou en 2000 [Zhou 00], ont permis de décrire la séquence primaire de la chaine lourde de fibroïne [Ha 05]. Ainsi, le gène est composé de deux exons (parties exprimées du gène en protéine) et d'un intron (partie non traduite du gène). Le premier exon possède 67 paires de bases dont les 25 premières paires ne sont pas traduites, et le deuxième 15750. L'intron est composé de 971 paires de bases. La molécule de chaine lourde de fibroïne est donc composée de $(42 + 15750)/3 = 5264$ acides aminés, car trois paires de

bases forment un codon représentatif d'un acide aminé. La séquence primaire est composée en trois parties, un début, une partie principale et une fin. La partie principale est composée de 12 sections entrecoupées de 11 sections répétitives GTGSSGFGPYVANGGYSRSDGYEYAWSSDFDFGT [Shul 06]. Les 12 sections sont composées de successions d'éléments répétitifs composés de séquences GAGAGS (segments de type a) et d'éléments non répétitifs où les sérines sont remplacées par des tyrosines et des alanines ; et des valines et des tyrosines substituent aléatoirement des acides aminés (segments de type b). Ces segments sont séparés pas une séquence propre GAGAGSGAAS.

Structure quaternaire

Les fibroïnes à chaine lourde et à chaine légère sont reliées entre elles par un pont di-sulfure, liaison covalente reliant deux cystéines [Mori 95] [Tana 99b]. Cet assemblage est indispensable à la bonne excrétion de la protéine. Six de ces combinaisons di-protéiques se regroupent autour d'une glyco-protéine appelée facteur P25 formant un complexe supramoléculaire par liaisons faibles. Ceci résulte en une structure quaternaire complexe [Tana 99a] [Zhan 05]. Il y a donc un ratio constant de protéines, 6 :6 :1, représentant respectivement la chaine lourde de fibroïne, la chaine légère et la fibrohexamerin/P25, qui constitue les brins de la soie [Inou 00].

1.3.2 Les connaissances sur la microstructure

La propriété des protéines est dirigée par leur conformation. Ceci est vrai pour les enzymes, les hormones, etc... C'est également valable pour les protéines fibreuses. Que ce soit le collagène, les prions ou l'élastine, leurs propriétés mécaniques sont directement liées à leur microstructure [Hest 01]. Bien comprendre la microstructure, c'est donc avoir une fenêtre ouverte sur la compréhension de la mécanique. Dans cette partie, la structure secondaire de la fibroïne sera détaillée par rapport aux connaissances actuelles [Zhao 01].

Nanostructure : structure secondaire

Une classification un peu obscure s'est mise en place autour de la structure de la soie, ce qui ne facilite pas son approche [Lotz 79]. En effet, on a cherché à séparer les différents états de la soie, soluble et non soluble. Ainsi, la soie de type I représenterait la soie avant filage, encore soluble. La soie solidifiée, après filage, aurait représenté la soie de type II. Malheureusement, des erreurs sont apparues notamment au niveau de la soie de type I qui est devenue la fraction soluble de la soie filée hydrolysée ainsi qu'une des conformations observées. Il en résulte chez certains auteurs une confusion entre soie solubilisée et soie soluble (non encore filée) ; de même qu'entre structure locale et globale. Il n'a pas été possible de retrouver les premiers papiers (1900-1950) proposant cette nomenclature erronée. Le schéma présenté en figure 1.9 explique les dénominations et erreurs que l'on retrouve dans la littérature.

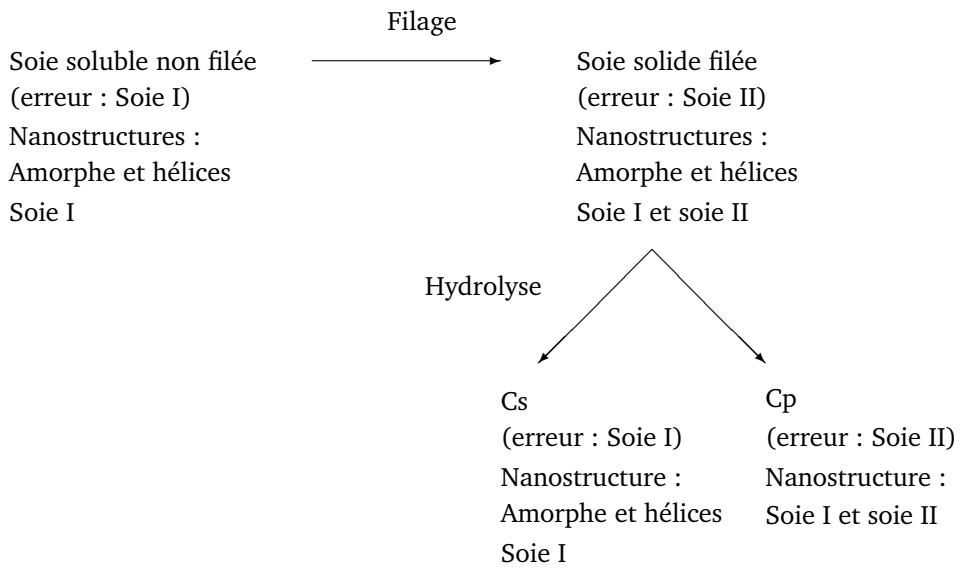


FIG. 1.9 – Diagramme de dégradation de la soie, ( ) : erreurs de terminologie souvent trouvées dans la littérature

Cependant, il est à noter que ce manque de clarté est dû à l'avancé en parallèle du concept et de la recherche, ce qui pose parfois des difficultés quant à la compréhension des éléments de discussions pour les productions scientifiques autour des années 2000 qui ont été riches quant aux avancées en matière de compréhension de la microstructure. Ainsi, le paragraphe suivant ne pourra représenter l'évolution de la compréhension en fonction du temps mais tachera de faire un dessin clair de la compréhension finale complète actuelle.

La soie est donc constituée de quatre organisations à l'échelle nanométrique. La plus important d'entre elle est la conformation en feuillets-β qui confère une part des propriétés mécaniques intéressantes à la soie et mène à une protéine fibreuse. Elle est également appelée soie de type II. Elle constitue la partie majoritaire de la fraction précipitée de l'hydrolysat [Numa 10]. Elle serait obtenue par les segments 'a' décrits plus haut par la séquence primaire, composés d'un motif répétitif GAGAGS. Sa structure répétitive révèle une structure cristalline permettant sa description originelle. En effet, la recherche de structure conformationnelle des protéines se fait actuellement pas des moyens sophistiqués associant moyens numériques, souvent basés sur la recherche de cas proches à partir d'une base de données, et de diffraction aux rayons X par cristallisation préalable des protéines, étape indispensable mais très complexe et encore empirique. La soie a, quant à elle, été un des premiers polymères étudiés par diffraction aux rayons X et faisait partie des cas d'études de référence.

Les résultats d'études aux rayons X ont montré que la structure cristalline était permise par l'alternance de glycine et d'alanine formant des feuillets-β antiparallèles selon une maille, cellule unitaire, initialement monoclinique $P2_1$ ou $P2_1$-C_2^2 puis orthorhombique de groupe spatial $P22_12_1$ ou $P2_12_12_1$ avec un axe de symétrie à 2 plans menant à une structure syndiotactique des chaines avec une masse volumique locale de 1,4g.cm^{-3} environ [Warw 54] [Mars 55], la discussion s'est ensuite portée sur l'alternance ou non des feuillets d'alanine et de glycine [Taka 99]. Les paramètres de mailles obtenus sont décrits dans le tableau 1.3. La présence de sérine, et d'autant plus pour la tyrosine, aurait comme impact de déformer la cristallite, sans pour autant l'empêcher, provoquant un élargissement des pics de diffraction dans l'axe a et b, perpendiculaire à l'axe de la fibre.

Distances 1nm=10Å	[Warw 54] 2D XRD	[Mars 55] 2D XRD	[Shen 98] WAXS	[Shen 98] WAXS	[Taka 99] WAXS
a (direction interplans, Van der Waals)	0,929nm	0,920nm	0,895nm	0,896nm	0,938nm
b (direction interchaines, Hydrogène)	0,944nm	0,940nm	0,944nm	0,944nm	0,949nm
c (axe de la fibre)	0,695nm	0,697nm	0,700nm	0,698nm	0,698nm
Liaisons hydrogènes	0,285nm	0,276nm			
Distance intermoléculaire	0,472nm	0,470nm			
Distance interchaine		0,347nm			
Distance interchaine bis		0,570nm			

TAB. 1.3 – Caractéristiques en diffraction aux rayons X de la maille de la phase cristalline de type II

Ces résultats aux rayons X (XRD : X-ray Diffraction, WAXS : Wide Angle X-ray Scattering) ont été confirmés et approfondis par les études en Résonance Magnétique nucléaire (NMR) [Demu 98] [Taka 99] dont une revue exhaustive tire les grands traits [Zhao 01], ces résultats sont décrits dans le tableau 1.4(a). Les cristallites formées de feuillets-β auraient donc au final une structure décrite dans la figure 1.10(b).

Ces cristallites peuvent être analysées par d'autres techniques telles que la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) et la spectrométrie Raman ; notamment pour l'étude de l'orientation des cristallites et de leur répartition. Ainsi, il a été confirmé un alignement des cristallites par rapport à l'axe de la fibre, en observant la réponse de l'amine I, fonction carboxylique, perpendiculaire à l'axe des fibres [Rous 04] ; ainsi que la répartition homogène des cristallites dans la fibre [Shen 98] [Cruz 06] [Tadd 05].

La deuxième conformation existante se présente sous forme de tours-β de type II, également appelée soie de type I. Elle constitue le reste de la fraction précipitée et se retrouve dans la fraction soluble. Elle est également présente dès l'origine, lors du stockage dans les glandes et résulte en la formation de la soie de type II. Cette structure se mettrait en place au niveau de tous les segments de structure GX∼GX, où X peut être une alanine, une sérine ou une tyrosine. Le maintient de cette structure dans les glandes est permis grâce au contrôle ionique (constante diélectrique) de la solution. Cette conformation a été décrite par l'utilisation de soie filée extraite de cocons, qui a été hydrolysée voire resolidifiée ainsi que par la soie présente dans les glandes non encore filée. Après filage, seuls les segments 'b' décrits par la séquences primaires resteraient dans cette conformation avec possibilité de modification en feuillets-β sous certaines conditions, traitement chimique tel que le méthanol [Chen 01] ou contrainte [Asak 02]. En effet, la tyrosine, possédant un radical composé

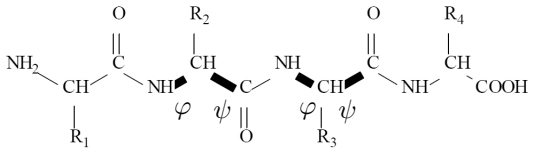
Angles	[Mars 55] 2D XRD	[Demu 98] S-s NMR	[Taka 99] WAXS
Glycine			
ϕ	-139°	-139°	-140,2°
ψ	140°	135°	153,2°
Alanine			
ϕ	-139°	-140°	-141,1°
ψ	140°	142°	152,2°

(a)

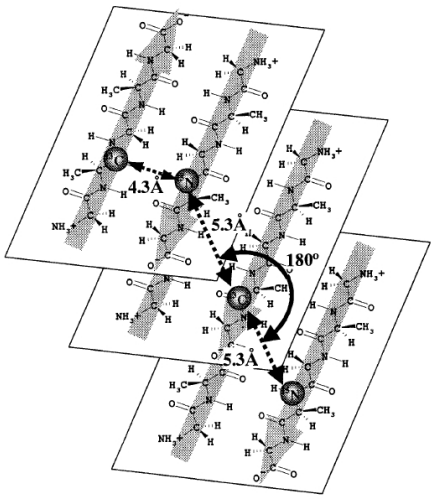
Angles	[Asak 01a] CP/MAS NMR	[Asak 05] REDOR NMR
Glycine		
ϕ	70°	77°
ψ	30°	10°
ω		177°
Alanine		
ϕ	-60°	-62°
ψ	130°	125°
ω		180°

(b)

TAB. 1.4 – Caractéristiques en résonance magnétique de la maille de la phase cristalline de type II (a) et de type I (b)



(a)



(b)

FIG. 1.10 – (a) Schéma de la notation angulaire (b) Schéma des cristallites [Kame 02]

d'un cycle, présente un encombrement stérique important limitant la formation de structures denses telles que les feuillets-β. Ces segments seraient donc représentatifs d'une région de transition entre cristaux et phase amorphe, deuxième argument pour justifier l'élargissement des pics de diffraction [Warw 54]. Les techniques utilisées sont principalement des techniques de diffraction aux rayons X et NMR (^{15}N- et ^{13}C-Cross-Polarization Magic Angle Spinning Nuclear Magnetic Resonance et Solid State Rotational Echo Double Resonance NMR) [Asak 97] [Asak 01b] [Asak 01a] [Asak 05]. La maille obtenue présente les dimensions suivantes : a=0,465nm ; b=1,44nm ; c=0,888nm. Les angles obtenus sont présentés dans le tableau 1.4(b). Son étude ainsi que la dynamique menant à une transition soie I - soie II a également été étudiée par l'utilisation de peptides de synthèse représentatifs de la séquence primaire de la fibroïne.

Il reste à noter qu'un certain nombre d'auteurs considère cette conformation comme non résolue et cite cette structure comme étant de type hélices-α. Cependant, la littérature est bien moins explicite et fournie quant à ce type de conformation [Mago 00] [Drum 05] [Shul 06] [Mart 08].

Pour confirmer ces différents états, de nombreuses études ont porté sur la transition entre ces phases notamment lors du filage. Cette transition a été observée par rayons X [Drum 05] et DSC (Differential Scanning Calorimetry) à partir de soie non filée. Il a été observé qu'une perte de 40% d'eau est nécessaire pour commencer la structuration en soie II [Mago 00]. Cette transition a également été observée par FT-IR [Chen 01] [Chen 07] en moyen et proche infra-rouge [Mo 09], ^{13}C CP/MAS NMR [Asak 02], et spectrométrie Raman [Mart 08]. Pour expliquer la stabilité de la soie soluble, une étude utilisant la technique de Circular Dichroism a montré que le processus de transition était conduit en deux phases thermodynamiquement différentes [Li 01] [Mats 06]. Une première phase de nucléation n'est pas favorable à l'organisation en soie II, à l'échelle d'une macromolécule par exemple, elle consiste en une condensation de la matière et l'apparition des premières cristallites. Par contre, une fois un seuil de nucléation obtenu, la phase de croissance est favorable à l'apparition de la soie II avec une réaction du premier ordre. Un autre facteur est donc nécessaire pour entamer la nucléation pour permettre la croissance. La déshydratation est un premier facteur, permettant de changer les valeurs d'équilibre. La modification de la concentration en ions chaotropique et kosmotropique, tel que de cuivre [Zhou 03], en est une autre. Enfin, un phénomène de cisaillement permet l'apport d'énergie final résultant en une nucléation suffisante de la solution pour une cristallisation [Li 01] [Ross 04], mécanisme observé par Molecular Dynamics Simulation [Yama 03]. Parmi ces facteurs, certains sont certainement à mettre en lien avec la présence de séricines. Il a en effet été montré qu'elles augmentent la conformation en feuillets-β [Ki 07c].

Enfin, le reste de la structure est composé d'hélices-α et de structure amorphe. Une conformation très particulière a enfin été observée dans certaines conditions, notamment les interfaces, appelée type III. Mais son étude se limite à la compréhension d'anomalies expérimentales mais n'apporte pas d'éclaircissement quant à la compréhension des phénomènes microstructuraux [Vall 99].

Ces différentes conformations sont observables [Mont 01] et quantifiables [Lefe 07] notamment par spectrométrie FT-IR et Raman. Ce qui permet une mesure de la proportion de ces nanostructures. Ainsi, la proportion obtenue pour la soie de *Bombyx mori* est [Lefe 07] :

Feuillets-β (soie de type II) : 50%

Tours-β (soie de type I) : 28%

Helices-α : 14%

Amorphe : 8%

Au niveau du ver, tout est donc mis en place pour contrôler le matériau produit et sa microstructure. Tout d'abord en maintenant la fibroïne liquide pendant la phase de production et de stockage. Puis en provoquant la transition conformationnelle pour induire la microstructure finale et les propriétés mécanique du fil produit. Ainsi, on peut observer un contrôle de la concentration en fibroïne, du pH, et concentration ioniques [Iizu 83]. Notamment, il y a une déshydratation due au passage dans la glande moyenne, premier rôle du grès hydrophile. Puis la déshydratation continue. De même, il y a une augmentation de la concentration ionique d'ions chaotropiques (Ca^{2+}) qui maintiennent une désorganisation permettant la formation d'un gel, et d'ions kosmotropiques (Na^{+}, K^{+}) qui ont tendance à faire précipiter la fibroïne, enfin, des ions stimulant la conformation en soie II (Cu^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+}) voient également leur concentration augmenter [Zhou 03] [Zhou 05]. Au passage dans la glande antérieure, la soie va subir un cisaillement partiellement contrôlé par les muscles entourant des plaques de chitine [Asak 07a], et influencé par la présence de grès [Ki 09], provoque la nucléation et la transition en soie II de la macromolécule [Ki 07c]. Ceci est stimulé par la diminution de la concentration en Ca^{2+}. La viscosité est également contrôlée le long des glandes afin d'optimiser le cisaillement et la conformation de la protéine [Pere 07]. Le processus de transition est alors au maximum au niveau de la filière. Ces mécanismes de filage avec une réorganisation moléculaire à l'état liquide rappellent l'état de cristal liquide que l'on observe pour les polymères synthétiques [Brau 03].

Microstructure :

Les plus petites structures observées sont donc la soie de type II. Ces cristaux présentent une géométrie évaluée à 2x6nm par microscope électronique à transmission [Dobb 67], 10x66nm par microscope électronique à balayage [Shen 98], et 16x23nm par AFM (Atomic Force Microscope) [Pere 07]. Une partie de ces nanostructures sont reliées entre elle par liaisons covalentes pour former la macromolécule. Une observation en AFM pourrait avoir montré des nanofilaments moléculaires de l'ordre de 2x160nm [Numa 10]. Cependant, l'utilisation de bain à ultrason pendant la préparation pourrait avoir détruit certaines liaisons covalentes et donc sous-estimer les dimensions. Il est séduisant de proposer un modèle moléculaire où les segments a et b se rejoignent grâce à la séquence primaire en forme de boucle qui les sépare [Hesl 98] [Zhou 01] [Ha 05]. On peut

alors imaginer une alternance de soie I et II tout le long de la macromolécule fibrillaire regroupée sur elle même. Les interactions intramoléculaires pouvant être prolongées à une échelle intermoléculaire. Un certain nombre de macromolécules se regrouperaient lors de la production formant les microfibrilles de dimensions 90x600nm [Pere 07]. Ces dimensions sont cohérentes avec les approximations précédentes sur les microfibrilles dont la largeur serait de l'ordre d'une centaine de nanomètres (130-185nm) [Mill 99] [Putt 00]. On peut ajouter que ces observations ont permis une orientation entre plusieurs couches de microfibrilles de l'ordre de 35-36° qui tient à rappeler certaines structures protéines à base de feuillets-β.

Cette structure pourrait venir de la méthode de production. La fibroïne plutôt hydrophobe en sa partie centrale formerait des micelles d'un diamètre de 100-200nm regroupées en globules de 0,8-15μm qui par cisaillement s'allongeraient lors du filage pour former les microfibrilles [Jin 03]. Cependant, cette hypothèse est quelque peu discutée pour des raisons d'énergies de cohésions car la transition vers la soie II nécessiterait un état grégaire (soie I) difficile à mettre en place au sein de micelles [Mart 08].

Enfin, il reste à noter la cohérence avec la structure primaire et les observations de longueur de cohérence à environ 600nm justifiant un repli partiel de la protéine. En effet, à partir des résultats de [Ha 05], on peut effectuer un comptage des acides aminés appartenant aux segments a, b et au reste. On obtient,

55% d'acides aminés relatifs aux segments a dont la conformation est estimée être de type II

25% d'acides aminés relatifs aux segments b dont la conformation est estimée être de type I

20% d'acides aminés relatifs aux restes dont la conformation est estimée être en hélices-α ou amorphe.

Ces résultats sont plutôt bien corrélés par ceux obtenus par spectrométrie Raman [Lefe 07] présentés précédemment de respectivement 50%, 28% et 22%. La proportion de soie de type II semble également bien s'assimiler au taux de cristallinité obtenu par diffraction aux rayons X entre 36 et 48% [Iizu 83]. De plus, si les repliements sont effectués théoriquement sur les 12 sections, la longueur de la macromolécule est de 1089 acides aminés. Si l'on considère que 55% des acides aminés appartiennent à la soie II dont les acides aminés s'étalent sur 0,35nm et que 45% est plutôt représentatif de la soie I dont les acides aminés s'étalent en moyenne sur 0,22nm, on obtient une longueur moyenne de 0,3nm ; soit une longueur de la macromolécule d'environ 320nm. Il suffit qu'un des repliements ne s'effectue pas ou que deux molécules se succèdent pour qu'en moyenne l'on obtienne la longueur de cohérence observée. Un schéma est représenté figure 1.11.

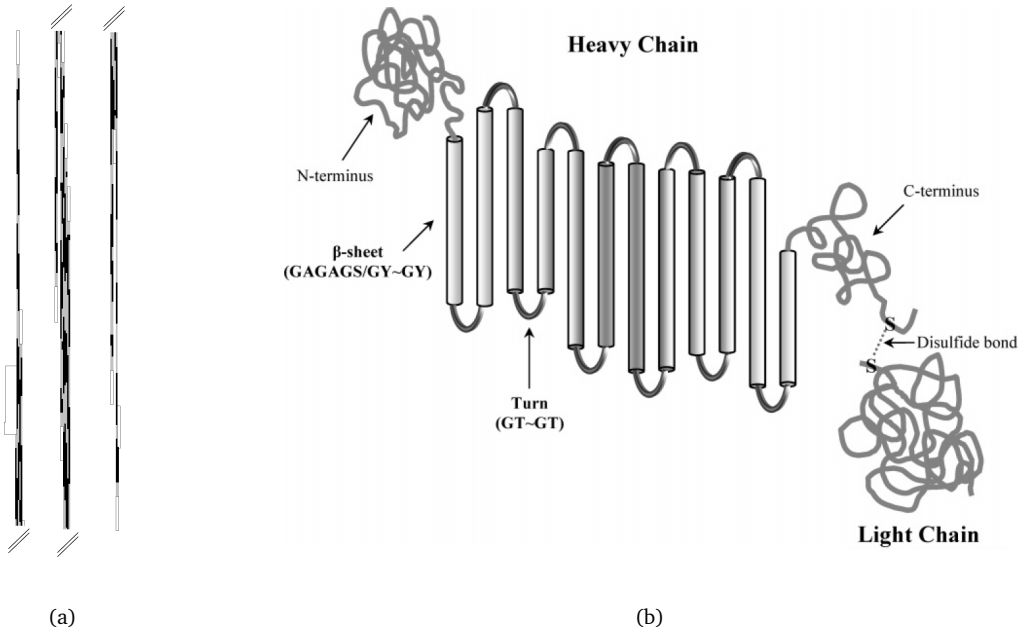


FIG. 1.11 – (a) Proposition de repliement de la fibroïne (noir : acides aminés de segments a, gris : acides aminés de segment b, blanc : autres acides aminés), (b) propositions de conformation [Ha 05]

Une dernière remarque peut être apportée sur le grès. La structure de ces protéines est peu connue du fait qu'elles ont été peu étudiées par rapport à la chaine lourde de fibroïne [Gare 97].

Conclusion

On peut donc conclure en schématisant l'étude multiéchelle qui permet une meilleure visualisation de l'état microstructural comme montré en figure 1.12.

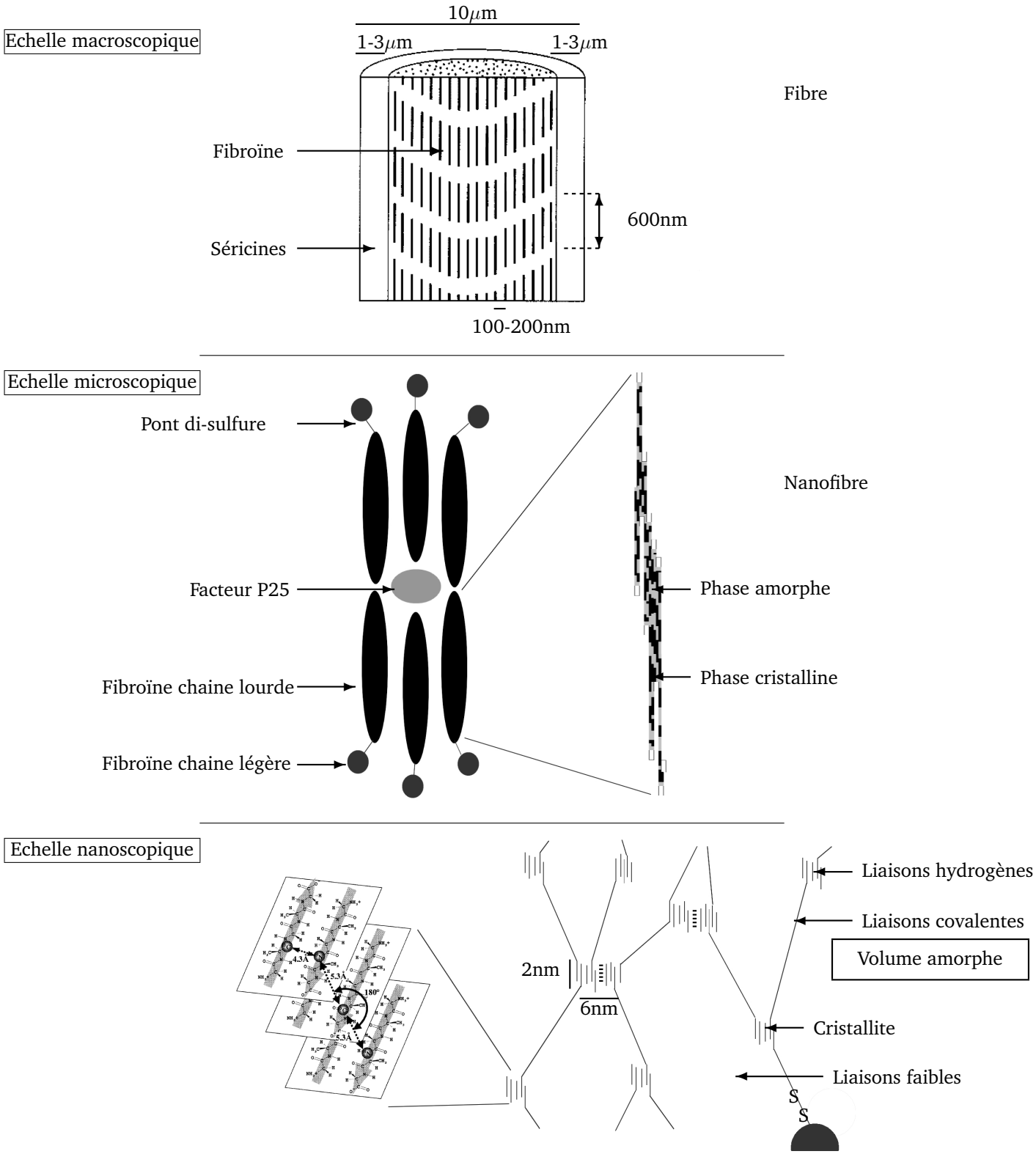


FIG. 1.12 – Représentation récapitulative sur la microstructure [Shen 98] [Kame 02]

1.4 Les autres matériaux

L'étude de la microstructure chez d'autres espèces telles que les araignées permet d'approfondir sa compréhension [Crai 97]. De plus, l'étude de la soie d'araignée est un domaine privilégié de la recherche actuelle, sa microstructure est maintenant relativement bien décrite. Comme pour le *Bombyx mori*, on peut retrouver des revues décrivant l'étendue des recherches [Hinm 00] [Voll 01] [Sche 04] [Dick 06] [Haki 07] [Rome 08].

1.4.1 La soie d'araignée

Le monde des araignées présente une diversité importante vis-à-vis de la soie par la multitude des espèces et la multiplicité des soies produites [Voll 00]. En effet, les araignées peuvent posséder plus de 7 types de glandes distinctes pouvant produire différentes soies pour différentes fonctions vitales. Architecture, construction et amélioration de la toile, protection des oeufs et de l'individu, sécurité en cas de chute... La soie présente chez l'araignée un grand nombre de propriétés, voir tableau 1.6 et figure 1.13.

Parmi la classe des Arachnides et de l'ordre des *Aranae*, différents genres (*Argiope*, *Araneus*, *Nephila*) appartenant à différentes familles (*Tetragnathidae*, *Araneidae*) ont présenté un intérêt quant à l'étude de la soie produite par leurs espèces, voir tableau 1.5. Ainsi, *Nephila* est le genre le plus étudié avec l'espèce *clavipes*, ensuite d'autres genres tels que *Lactrodectus*, *Araneus*, *Argiope* ont également servi d'exemple.

Séquence génétique et structure primaire

La séquence génétique d'un grand nombre d'espèces est maintenant connue avec plus ou moins de précision certes, mais cela permet tout de même un comparatif relativement pointu [Crai 02]. Parmi les soies étudiées, la soie 'ampullate' majeure est la plus choisie pour ses propriétés mécaniques élevées. On peut retrouver des similitudes dues à l'origine commune au cours de l'évolution. Ainsi, le gène de la spidroïne, protéine constitutive de la soie d'araignée est formé comme pour le *Bombyx mori*, d'un intron et de deux exons. De la même manière, il est représenté par la répétition de sections similaires, avec des motifs répétitifs.

Cette soie est constituée de deux types de spidroïnes majeures (MaSp), 1 et 2. Les spidroïnes sont constituées principalement de glycine, alanine, sérine pour 62-63%, et si on ajoute la glutamine, le glutamate et l'arginine, on obtient près de 80% de la molécule, voir tableau 1.7 [Lomb 90]. On peut constater que la spidroïne est plus riche dans sa diversité en acides aminés que la fibroïne. Il en va de même dans sa séquence primaire qui présente moins de conservation. Chez *Nephila clavipes*, la MaSp1 est constituée de 718 acides aminés qui s'organisent en 24 sections de 34 acides aminés plus une vingt cinquième réduite. Chaque section a comme structure de base la séquence suivante [Xu 90] :

$$\underline{\text{AGR}}\ \underline{\text{GGL}}\ \underline{\text{GGQ}}\ \underline{\text{A}}\ \text{G}\ \underline{\text{A}}\ \text{G}\ \underline{\text{A}}\ \text{AAAA}\ \underline{\text{GG}}\ \text{AGQ}\ \underline{\text{GGY}}\ \text{GGLGGQG}$$

Les triplets d'acides aminés ou les acides aminés seuls soulignés représentent les possibles suppressions. On constate que la section se divise en trois segments :

AGR GGL GGQ qui peut subir de nombreuses suppression trois par trois

AG AAAAAAA qui correspond à une chaine poly(Alanine) avec la possibilité de suppressions d'une ou plusieurs alanines.

GGA GQ GGY GGL GGQG qui est une séquence relativement bien conservée.

La MaSp2, quant à elle, est constituée de 627 acides aminés représentés en 15 sections similaires plus une séquence de fin très bien conservée semblable à celle observable pour la MaSp1. Les sections ont comme structure la séquence suivante [Hinm 92] :

$$\underline{\text{ESGOO}}\ \underline{\text{GPGGY}}\ \underline{\text{GPGQQ}}\ \underline{\text{GPGGY}}\ \text{GPGQQ}\ \text{GPGGY}\ \text{GPGQQ}\ \text{GP SGPGS}\ \underline{\text{A}}\ \underline{\text{A}}\ \underline{\text{A}}\ \underline{\text{A}}\ \text{AAAAAA}$$

On constate que les sections sont constituées de deux segments :

$[(\text{GPGGY})(\text{GPGQQ})]_{2-3}$ donc principalement GPGXX avec X pouvant être une glycine, une tyrosine ou une glutamine

GP SGPGS AAAAAAAAAA qui correspond principalement à une chaine poly(Alanine) avec la possibilité de suppressions d'une ou plusieurs alanines.

Ordre	Famille	Genre	Espèce
Aranae	*Tetragnathidae*	*Nephila*	*clavipes* *madagascariensis* *edulis* *pilipes* *senigalensis*
	Araneidae	*Argiope*	*trifasciata*
		Araneus	*diadematus*
	Theridiidae	*Latrodectus*	*hesperus*
	Nephilidae	*Nephilengys*	*cruentata*

TAB. 1.5 – Classification des principales espèces d'araignées étudiées

Glande	Type	fonction
Glande 'ampullate' majeure	spidroïne majeure 1 et 2	fil de soutien de la toile, fil de sauvegarde (a+c+e)
Glande 'ampullate' mineure	spidroïne mineure 1 et 2	fil en spiral auxiliaire (b)
Glande piriforme	spidroïne piriforme	fixations et attaches (d)
Glande flagelliforme	spidroïne flagelliforme	fil en spiral de capture (f)
Glande agrégée	spidroïne agrégée	revêtement hydrophile pour capture (f)
Glande tubulliforme	spidroïne tubulliforme	sac d'œufs
Glande aciniforme	spidroïne aciniforme	enrobage des proies

TAB. 1.6 – Glandes, types et fonctions de la soie d'araignée de *Nephila*, reproduit à partir de [Bitt 07]

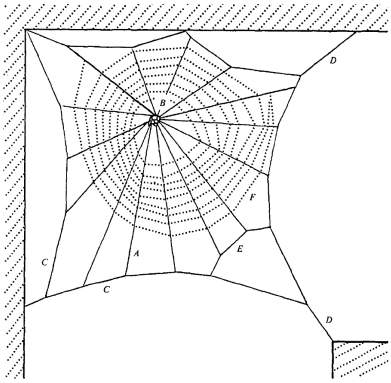


FIG. 1.13 – Schéma d'une toile d'araignée, voir correspondance dans le tableau 1.6 [Denn 76]

acide aminé	*Bombyx mori*	*Nephila clavipes*
Glycine	44,1%	37,1%
Alanine	29,7%	21,2%
Serine	12,4%	4,5%
Tyr Phe	7,5%	10,2%
Leu Ile Val Asx Glx	3,6%	11,7%
Proline	/	4,5%
His Cys Lys	/	1,0%
Autre	2,1%	7,8%

TAB. 1.7 – Composition en acides aminés de la soie 'ampullate' majeure selon [Lomb 90], Phe : phénylalanine, Leu : leucine, Ile : isoleucine, Asx : aspartate et ac. aspartique, Glx : glutamate et ac. glutamique, His : histidine, Lys : lysine

Des fils de la glande flagelliforme ont également été observés, ils ont une composition de 811 acides aminés répartis en 27 sections complètes de 30 acides aminés et une section réduite, avec comme motif répétitif (GPGGX) où X peut être une alanine, une sérine, une tyrosine, une valine ou une thréonine [Haya 98]. En changeant de famille, on obtient le même résultat avec un motif répétitif basé sur la séquence ((GGX)$_m$,(GPGGX)$_n$ chez les *Nephilengys cruentata* [Bitt 07].

Il existe également un séquençage complet de *Latrodectus hesperus*. La MaSp1 est constituée de 94 sections avec deux segments, un de type (GX)$_m$(GGY)$_n$ où X et Y peuvent être une alanine, une tyrosine, une thréonine ou une arginine et l'autre de type poly(alanine). La MaSp2 est constituée de 131 sections de deux segments, l'un structuré autour du motif (GPGX) où X peut être une glycine, une sérine, une tyrosine, une thréonine ou une arginine, entouré de séquences de type, (GGA), (GGQQ), (AG) et (GY), et l'autre d'une séquence poly(alanine) [Ayou 07].

En conclusion on peut dire que la MaSp1 est caractérisée par une séquence [(GGX)$_m$, (A)$_n$], et la MaSp2 est caractérisée par une séquence [(GPGX)$_m$, (A)$_n$], où X peut être Ala, Gly, Ser, Tyr, Thr, Arg.

Nanostructure : structure secondaire

La nanostructure de la MaSp a principalement été étudiée chez les *Nephila* notamment l'espèce *clavipes*. Les nanostructures de cette protéine sont étudiées à l'échelle de l'acide aminé, elles sont donc similaires pour tous les types d'araignées, c'est par contre leur proportion qui peut varier en fonction de la composition des spidroïnes propres à chaque espèce. Nous n'aborderons pas l'étude des autres types de soies car leurs propriétés et composition s'éloignent fortement du cas de la soie de *Bombyx mori*.

Les segments précédemment décrits présentent une microstructure propre. Les études ont utilisé principalement la diffraction aux rayons X (WAXS et SAXS) ainsi que la NMR pour résoudre la nanostructure. Ainsi, les segments de type poly(alanine) sont caractérisés par une structure en feuillets-β anti-parallèles avec un arrangement syndiotactique, voir le tableau 1.8 [Simm 94]. Les segments de type (Gly-X)$_i$ ou (Gly-Gly-Y)$_j$ et (Gly-Pro-Gly-Gly-Z)$_k$ sont quant à eux disposés respectivement en hélices-3$_{10}$ et en spirale de tours-β de type II [Kumm 96] [Haya 99] [Beek 02]. Les segments de type (Gly-X)$_i$ et (Gly-Gly-Y)$_j$ semblent pouvoir prendre une conformation en feuillets-β. Les segments plus spécifiques de type (Gly-Ala)$_n$ sont également disposés en feuillets-β comme chez le *Bombyx mori* [Park 97].

Distances	*Nephila clavipes* [Park 97]	*Nephila clavipes* selon Becker 1994*	*Nephila clavipes* [Riek 99b]	*Lactrodectus hesperus* [Tran 06]
a (distance interchaines)	0,936nm	0,944nm	0,970nm	0,940nm
b (distance interplans)	0,108nm	0,106nm	0,109nm	0,108nm
c (axe de la fibre)	0,695nm	0,695nm	0,697nm	0,700nm

TAB. 1.8 – Dimensions de la maille cristalline orthorhombique de la MaSp, * : voir [Mill 00]

Cette nanostructure reflète une microstructure où cristaux de feuillets-β sont entourés de matière plutôt ordonnée en hélices-3$_{10}$ ou en tours-β, le tout au milieu de matière amorphe. En effet, il est à noter que les hélices-3$_{10}$, contrairement aux hélices-α, présentent la possibilité de former des liaisons hydrogènes inter-hélices et donc de renforcer le réseau de liaisons faibles [Kumm 96]. Une conformation de la protéine à été proposée par calculs mathématiques statistiques [Term 04], elle reflète une disposition en série de cristallites à petite échelle et pouvant former des réticulations intramoléculaires ou intermoléculaires à plus grande échelle. Les macromolécules pourraient ainsi former un réseau reliant les cristallites par liaisons covalentes et liaisons faibles [Gosl 99] [Beck 03]. Au niveau des dimensions, les cristallites ont été calculées aux alentours de (6)x(2)x(5)nm [Riek 99a] , 10x10nm [Pere 07] et plus précisément à (6,4-7,3)x(2,1-2,4)x(2,7-3,5)nm [Du 06], la plus grande longueur étant dans l'axe de la fibre. Cette organisation formerait des microfibrilles de 59-160nm de large et de 100-230nm de long, successions de domaines plus orientés sphériques de 70-100nm de diamètre [Mill 00]. Ces valeurs sont dans l'ordre de grandeur d'autres observations évaluant les sphères et donc la largeur des microfibrilles à 40-80nm [Orou 02] [Du 06]. Une proportion de ces nanostructures est rapportée dans le tableau 1.9. Il reste à noter que ces feuillets-β sont très bien alignés par rapport à l'axe de la fibre, voir figure 1.14 [Rous 04] [Du 06].

Comme pour le ver à soie, les conditions physico-chimiques sont importantes quant à l'état de la soie et sa susceptibilité à cristalliser et obtenir sa conformation finale. Ainsi, un contrôle des ions est nécessaire, les ions chlorides ne semblent pas avoir d'impact significatif, par contre, les ions phosphates ont un effet kosmotropique [Eiso 10]. Le domaine C-terminal (fin de la protéine) aide à la conformation [Hagn 10], de même que le pH,

Nanostructures	*Nephila clavipes*	*Nephila edulis*
Amorphe	12%	11%
Hélices-3_{10}	18%	22%
Feuillets-β	37%	36%
Tours-β de type II	31%	33%

TAB. 1.9 – Proportion des nanostructures présentes dans la soie d'araignée *Nephila* [Lefe 07]

l'acidité mène en effet à une agrégation [Aska 10]. Enfin, le cisaillement lors du filage a également son importance quant à la conformation finale, d'où l'observation de l'influence de la vitesse de filage sur la microstructure et les propriétés mécaniques [Du 06]. Il est intéressant de noter que la microstructure est stabilisée rapidement après la sortie du fil. A une vitesse de filage de 7mm.s^{-1}, la cristallisation est déjà effective à 2,4mm de la filière, cependant, celle-ci n'est pas finie jusqu'à 4,9mm [Riek 99b] [Riek 00] [Riek 01]. Il y donc une croissance des cristallites hors de la glande, certainement due à une déshydratation ultime. La transition vers une conformation en feuillets-β a été étudiée par FTIR [Chen 02], Circular Dichroism [Dick 04] et NMR [Hron 04], ce qui permet à certains auteurs de proposer une structure de cristal liquide [Voll 01] [Knig 02]. Cisaillement et hydratation sont donc deux facteurs clefs quant à l'organisation et le taux de cristallinité de la matière.

Pour finir, on peut remarquer l'observation d'une peau et d'un coeur pour la fibre de soie d'araignée de *Nephila clavipes* observé par microscopie électronique [Fris 98].

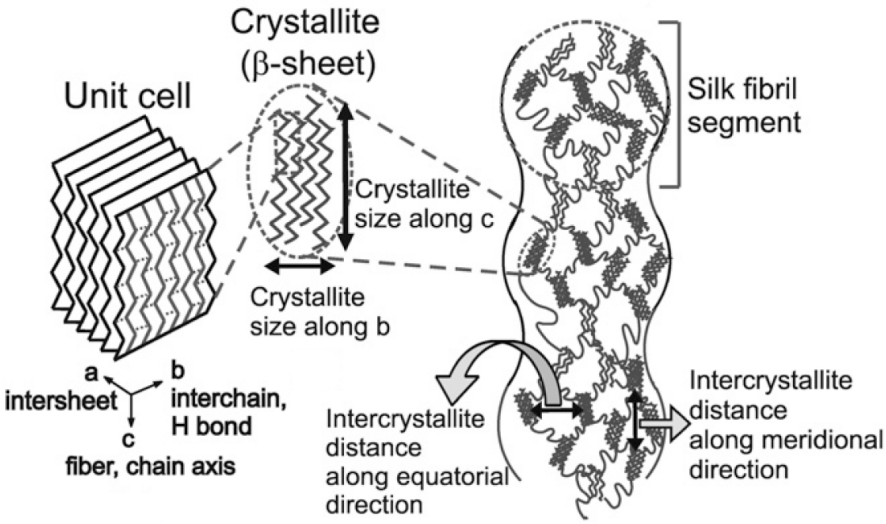


FIG. 1.14 – Microstructure de la soie d'araignée [Du 06]

1.4.2 Une variété d'autres soies ou de soie modifiée

D'autres variétés de soie ont fait l'objet d'études. Notamment les races de ver à soie sauvages qui permettent d'observer des systèmes proches mais différents sans avoir à effectuer des modifications génétiques contrôlées, longues à mettre en place. Par exemple, les espèces *Galleria mellonella* [Zuro 02], *Antheraea mylitta* [Dash 07] ont été utilisées. Mais plus particulièrement l'espèce *Samia cynthia* (sous-espèce *ricini*) dont la morphologie [Asak 07b], et la structure de la soie est également connue [Van 00] [Asak 04]. La proportion des nanostructures pour ce ver sont : 10% d'amorphe, 14% d'hélices-3_{10}, 45% de feuillets-β et 31% de tours-β [Lefe 07].

La soie peut également être modifiée par différentes voies :

Génétique :
Cette technique permet de faire des modifications contrôlées et d'aider à la compréhension de certains phénomènes [Mori 00] [Thom 02]. Elle permet également d'apporter des modifications ayant pour objectifs une amélioration des propriétés mécaniques, l'apport d'autres propriétés intéressantes (par exemple, une fonctionnalisation permettant une adhésion cellulaire accrue), voir la production de molécules d'intérêts [Roye 05].

Chimique :
La soie, comme tout polymère protéique, présente un intérêt particulier pour être modifiée chimiquement. En effet, la diversité en acides aminés sous-entend une diversité de résidus et donc de fonctions chimiques potentielles pour des réactions de greffage. Des agents tels que le méthacrylamide [Fred 96] [Kawa 96] mènent à une amélioration des propriétés mécaniques, des sulfates servent à limiter la coagulation [Tadd 07]... On peut également effectuer des réactions enzymatiques permettant la greffe d'autres macromolécules telles que le chitosan ou des peptides qui apportent des fonctions antiseptiques [Mont 05] [Samp 05] [Bai 08]. Il ne faut pas oublier aussi l'impact de traitements chimiques tels que les teintures qui sont plutôt négatifs pour les propriétés mécaniques mais qui apportent une toute autre valeur ajoutée, la coloration [Soma 97] [Soma 98] [Prac 07].

Physique :
Des traitements par irradiation et plasma ont notamment été étudiés pour améliorer la qualité de surface et l'entretien de la soie textile [Peri 07] [Chen 04b]. Certains auteurs relatent une amélioration des propriétés par l'utilisation d'un métalliseur pulsé. Il a été proposé pour expliquer ces observations que les atomes d'aluminium formeraient des réticulations au sein de la matière. Cependant, cette étude nécessite d'être reproduite pour s'assurer qu'aucuns biais ne justifient cette hausse des performances [Lee 09]. Enfin, il a été tenté de développer des fibres de carbones à base de fibre de soie. Cependant, les propriétés mécaniques obtenues sont très loin des fibres de carbone obtenues par voie de synthèse car la matière reste non alignée, mais peuvent présenter des intérêts pour des applications non mécaniques [Khan 07] [Kim 07].

Mélanges :
La soie a été mélangée à de nombreux autres polymères afin d'obtenir un composite bénéficiant des qualités des différents matériaux agrégés. Ainsi, elle a été associée à de la cellulose [Kane 00], du polycaprolactone [Chen 04a], du chitosan [Sash 07], de la kératine de laine [Ki 07a], de l'acide polylactique [Cheu 09] [Yin 10] [Zhan 10], des nanoparticules d'argent [Sash 09] et des nanotubes de carbones [Gand 09]. La soie permet notamment d'apporter des bonnes propriétés mécaniques au composite.

1.4.3 La soie régénérée

Un dernier type de soie nécessite plus d'explications, la soie régénérée. Elle consiste en l'obtention de soie soluble artificiellement, et la solidification de celle-ci sous différentes formes. Nous avons déjà légèrement abordé l'intérêt de ce type de soie quant à la compréhension de certains phénomènes notamment la transition de soie I en soie II et l'étude plus générale de la microstructure de la soie [Wang 05]. Cependant, ce type de soie présente également bien d'autres qualités. Nous aborderons ici les moyens d'obtentions et les voies de solidification proposés dans la littérature.

En effet, pour pallier certains inconvénients de la soie tels que ses défauts ou hétérogénéités dus à son aspect naturel, il a été développé l'éventualité de contrôler le filage de la soie soluble obtenue artificiellement par des procédés industriels [Kund 08]. L'obtention de soie soluble par dissection des vers de *Bombyx mori* n'étant pas avantageux en temps comme en coût, d'autres sources ont été proposées. Il a notamment été proposé de produire de la soie par voie biotechnologique à partir de bactéries, de plantes voire de mammifères [Laza 02] [Jung 06] [Yang 09] [Wen 10]. La soie est alors extraite depuis la solution de culture, le broyat ou la lactation.

Il y a ensuite la nécessiter de filtrer les solutions afin de concentrer suffisamment le polymère pour le filage. Cependant, aucune réelle application viable n'a été poursuivie, car il est très complexe de contrôler la stabilité conformationnelle de la protéine et obtenir un fil digne d'intérêt [Klug 08].

La deuxième source de soie soluble se fait par dissolution de soie déjà naturellement filée en cocon. Il y a alors une étape de traitement chimique supplémentaire. Des solutions de lithium thiocyanate (LiSCN), lithium brome (LiBr), de calcium nitrate tetrahydrate - méthanol, et de chlorure de calcium - éthanol ont été proposées [Liiv 98] [Yama 01] [Ha 03]. Le problème de cette étape est que la stabilité naturelle de la soie nécessite des conditions dures, et que cela peut conduire à un endommagement de la chaine macromoléculaire (diminution de la masse moléculaire). La conformation spatiale de la protéine est également altérée par dénaturation, elle n'est en effet pas parfaitement réversible par resolidification. Ainsi, la conformation est modifiée et certaines liaisons covalentes peuvent être rompues facilitant la dissolution mais altérant le potentiel du réseau macromoléculaire. Il semblerait que la moins dommageable de ces méthodes, c'est-à-dire limitant la dégradation de la macromolécule, serait le lithium thiocyanate [Yama 01].

Parfois un autre solvant permet de faire la transition et plus particulièrement le relatif stockage de la solution. Il est alors utilisé de l'hexafluoro-2-propanol, du N-methyl morpholine N-oxide, du 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ou du 1-ethyl-3-methylimidiazolium chlorid [Liiv 98] [Mars 05] [Phil 05]. La nécessité de passer par un premier solvant comme le LiBr montre qu'il y a certainement une dégradation de la molécule pour permettre une solubilisation dans le deuxième solvant, ce qui n'est pas vraiment souhaitable si l'on recherche un véritable mimétisme et à reproduire les propriétés fidèlement.

Une fois la solution obtenue, il faut la solidifier. Différentes méthodes existent :

- Par évaporation, ce qui permet d'obtenir des films ou des mousses à température ambiante par évaporation du solvant ; ou par lyophilisation [Li 02] [Kim 05] [Tama 05].
- Par extrusion, la solution de fibroïne est placée dans une seringue avec une filière dont les paramètres sont contrôlés puis extrudée dans une solution permettant la solidification de la soie sous forme de fibre, les fibres obtenues ont une section circulaire avec un diamètre allant de 20μm à 100μm [Liiv 98].
- Par 'electrospinning', une tension élevée est appliquée entre la filière de la seringue contenant la solution et une surface de dépôt. Ceci résulte en la formation de très fin filaments de polymère solide entre la seringue et la surface de dépôt de quelques centaines de nanomètres, voire moins de cent nanomètres [Jin 02] [Ayut 05] [He 07].

L'étape de solidification nécessite donc souvent des bains coagulants permettant d'obtenir de la soie solide. Différentes solutions ont été proposées telles que le méthanol, l'éthanol, l'acide formique, l'acétonitril, l'eau, l'ethylacétate, l'acétone, et des hexanes [Ayut 05] [Mars 05] [Phil 05]. Cependant, le méthanol est préféré compte tenu des bons résultats dans l'obtention des fibres. Ces solutions vont principalement permettre l'agrégation de la soie mais également de contrôler sa conformation. Il a été observé que lors de la solidification, la conformation en feuillets-β est privilégiée, ce qui va justifier la cristallinité du matériau.

La complexité de ces étapes réside dans la conformation spatiale de la protéine résultante du procédé. Or, la conformation spatiale et donc la microstructure, sont les principaux paramètres du comportement macroscopique. Il faut donc contrôler du mieux possible la proportion des nanostructures, notamment les feuillets-β et la phase amorphe, mais également leur orientation afin d'obtenir les propriétés mécaniques recherchées [Jeli 98].

Les systèmes obtenus peuvent être sous formes de fibres, de films, de mousses, d'hydrogels [Kim 04], de nanoparticules etc... Leurs performances notamment mécaniques vont être dépendantes principalement de la porosité, de la cristallinité et de l'orientation [Seid 00] [Ki 07b] [Zhan 07]. Pour contrôler ces paramètres, la concentration en fibroïne de la solution, les solvants utilisés ou solutions ioniques, le pH et la température sont primordiaux [Suki 03] [Kim 04] [Drum 05] [Zhu 07] [Zhu 08] [Amir 09].

1.5 Les applications

1.5.1 Le textile de luxe et technique

La soie, après avoir été utilisée historiquement dans des applications textiles pour son esthétique et sa légèreté, de même que des applications techniques telles que les parachutes pour sa résistance, a été supplantée après la Seconde Guerre Mondiale par les fibres synthétiques. Aujourd'hui, elle est toujours utilisée pour le textile de luxe. On a continué à améliorer sa qualité empiriquement au niveau de la production ainsi que de la transformation. On essaie aujourd'hui de pallier ses carences, tel qu'un manque d'élasticité pour les sous-vêtements, sa difficile mise en forme, et son entretien [Guan 06] [Tadd 07] [Peri 07]. Elle est également utilisée pour des fibres techniques, dans le sport notamment [Mats 99].

1.5.2 Biomédical

Cependant, le grand domaine de développement pour la soie est clairement le biomédical, comme en atteste les nombreuses revues que l'on peut lire sur le sujet [Wang 06] [Dand 07] [Mala 07] [Vepa 07] [MacI 08]. La soie était historiquement utilisée comme suture avant d'être supplantée par les polymères synthétiques. Les premières applications médicales ont été développées dès le début du XXe siècle [Bart 16] mais connaissent une accélération depuis les années 2000.

La soie présente de nombreux avantages quant à sa nature protéique. Premièrement, la soie est biocompatible, c'est-à-dire que des cellules peuvent croître sur ce type de structure. Ceci est vrai pour un grand nombre de cellules différenciées, de l'épiderme, du foie ou autre, tout comme des cellules souches [Inou 98]. De plus, elle ne présente pas plus d'allergie que les autres polymères du type collagène ou chitosan. Par contre, il faut pour cela avoir parfaitement décreusé la soie car le grès quant à lui, présente des effets allergènes non négligeables. La soie est également biodégradable. A ce titre elle va être dégradée *in vivo* et de ce fait éliminée par l'organisme [Hora 05]. Par contre cette propriété ne peut être revendiquée car les caractéristiques de la soie ne répondent pas aux critères définissant la biodégradabilité in-vivo qui imposent "une perte des priorités mécaniques deux mois après l'implantation dans l'organisme". Or, la soie garde ses propriétés jusqu'à un an et disparaît au bout de deux [Altm 03]. Ceci va de paire avec ses qualités mécaniques pour lesquelles la soie présente un intérêt non négligeable.

Ensuite, elle peut être dissoute ou obtenue directement sous forme liquide. Ce qui lui permet d'être modelée sous de nombreuses formes. Ainsi, il peut être obtenu des fibres ou fils (naturellement ou non), des torons, des tissus, des films, des mousses, des hydrogels, voire des particules, etc... Tout ceci avec des dimensions extrêmement variables depuis la dizaine de nanomètres jusqu'à la dizaine de micromètres pour les fibres.

Enfin, sa nature protéique permet des modifications chimiques ou biotechnologiques pour optimiser ses propriétés. Ainsi, la structure primaire peut être améliorée pour présenter des séquences d'acides aminés (exemple : RGD, Arg-Gly-Asp) améliorant l'adhésion cellulaire [Yana 07]. Des greffons peuvent être ajoutés par synthèse, ceux-ci peuvent être des facteurs de croissance cellulaires ou des composants antiseptiques. Elle peut également être améliorée par mélange.

Elle est donc recommandée pour toute sorte d'échafaudages cellulaires où les structures nécessitent de bonnes performances mécaniques et une durée de cicatrisation importante. C'est notamment au niveau de la soie régénérée que peut se développer ce type d'applications car il faut un contrôle précis de la composition et de la structure. Ces applications peuvent toucher tout type de cellule : fibroblastes [Chen 04a] [Mein 04], kératinocytes [Min 04], ostéoblastes [Kino 07], chondrocytes [Wang 10b], cellules épithéliales [Wang 10a], cellules endothéliales [Bond 08] [Haki 10] ; pour différentes applications : réparations osseuses (crâne [Mein 05], fémur [Mein 06] [Kirk 07]), disques vertébraux [Chan 07], ligaments [Altm 02] [Liu 07], nerfs [Prie 07] [Yang 07], vaisseaux sanguins [Love 07], pansements [Whar 10]. Les multiples applications non exhaustives sont résumées dans le tableau 1.10.

La soie ne présente pas que des intérêts dans la chirurgie réparatrice mais également dans d'autres applications biomédicales. Notamment, ses propriétés mécaniques et sa biodégradabilité relativement lentes sont un avantage en tant que revêtement de structures médicales ou encapsulation de particules pour relargage progressif d'agents médicamenteux [Chee 07] [Wang 07a] [Wang 07b] [Wenk 08] [Wang 08] [Lamm 10]. La soie peut également former elle-même des particules poreuses pour la même application. Ceci présente un intérêt dans le traitement ciblé pour le cancer ou la guérison localisée d'organes réparés.

Tissus		Cellules	Structure
Conjonctif	Mésenchyme	Fibroblaste	Fibre, mousse
	Tissu osseux	Ostéoblaste	Film, tissu, mousse
	Tissu cartilagineux	Chondrocytes	Mousse
Epithelial	Epithelium	Keratinocytes	Fibre, tissu, mousse
	Endothelium		Tissu, mousse
Nerveux			Fibre, mousse

TAB. 1.10 – Fonctions et applications envisagées de la soie dans le biomédical

1.5.3 Les nombreuses autres applications proposées

Le domaine des cosmétiques utilise actuellement la soie pour des savons, des crèmes... La soie a été proposée comme matériau de structure permettant la fixation de diverses molécules pour des senseurs [Demu 89] [Sing 07], des matériaux absorbants [Ki 07a] ou d'autres structures électroniques tels que des électrodes neuronales [Kim 10]. Elle sert également de renfort pour des systèmes micro-électro-mécaniques (MEMS) [Bai 06]. Les fibres de carbone obtenues ne présentant pas d'intérêt mécanique, mais elles ont été proposées en tant que nano-fils conducteurs de haute capacité [Kim 07]. La soie est également un matériau transparent, cette propriété a été exploitée pour des systèmes optiques [Perr 08] [Amsd 10].

Une dernière notion sur les applications est apportée à l'autre composant de la soie, les séricines. Ce complexe protéique plutôt considéré comme un résidu du procédé industriel pourrait être valorisé en tant que co-produit. En effet, ces protéines peuvent également former des colloïdes ou des films [Kane 34] [Tera 05] [Dash 09]. Des applications en tant que biomatériau ont déjà été trouvées [Zhan 02].

1.6 La caractérisation du fil de soie

Cette étude consiste en la compréhension du comportement mécanique. Nous allons donc maintenant aborder l'aspect mécanique vis-à-vis de la littérature et témoigner des premières idées et observations sur le lien entre mécanique et microstructure.

1.6.1 Comportement mécanique

1.6.1.1 De la soie de *Bombyx mori*

La première étude trouvée sur le comportement mécanique de la soie date du tout début du XXe siècle [Beau 03]. L'auteur a ainsi pu calculer avec les moyens de l'époque un module d'Young, un coefficient de Poisson et les paramètres de Lamé. Cependant, ses résultats sont difficilement compréhensibles car les références n'étaient certainement pas les mêmes qu'aujourd'hui. Notamment, il était alors compliqué de calculer la section avec précision, les mesures de contrainte étaient donc souvent basées sur le denier (un denier équivaut à un gramme de matière pour neuf milles mètres de fil)[6], unité représentative de la section de l'industrie textile. Aujourd'hui encore, la notion de N/tex persiste dans l'industrie pour mesurer la contrainte (un tex équivaut à un gramme de matière pour 1000 mètres de fil). Pour obtenir la contrainte dans le système international (USI), il suffit alors de diviser par la masse volumique, voir équation 1.1.

$$\sigma_{den} = N/den = N/\rho.S = \sigma/\rho \quad avec \quad S = V/L = M/\rho.L \quad et \quad den = M/L \tag{1.1}$$

Où, N : force, S : surface, L : longueur, V : volume, M : masse, ρ : masse volumique (ρ = M / V)

Il peut être remarqué que ces problèmes de mesures de section persistent. Les premières observations de la non circularité ont fait se perpétuer l'utilisation des unités issues de l'industrie [Duna 95] [Prez 98]. Même si l'on avait déjà conscience que cette vision moyennée de la section ne se justifiait pas vraiment pour la soie. En effet, la section évolue le long de la fibre et de nombreuses irrégularités existent. Différentes méthodes ont été proposées pour ajuster au mieux la valeur. La section a notamment été modélisée comme circulaire, ce qui est très loin de la réalité, par l'utilisation d'un LASER pour mesurer la section comme pour les fibres synthétiques circulaires [Fedi 03] ; puis comme triangulaire avec le calcul d'un petit côté et d'un grand côté, plus proche mais encore inexact [Prez 00b]. Cependant, ces mesures se sont avérées inefficaces comme facteur de normalisation car elle apportent finalement plus de variabilité. La meilleure méthode a donc été un calcul indépendant de la moyenne de la section (par les hypothèses précédemment décrites) et des valeurs mécaniques ; suivi d'un calcul *a posteriori* des valeurs physiques.

Ceci est à mettre en parallèle avec la variabilité intrinsèque de la fibre de soie. Comme tout produit naturel, la soie présente une importante variabilité due à l'infinité des facteurs présents pendant le filage du *Bombyx mori* : facteurs relatifs à l'individu selon sa race, son alimentation (variation de la composition) ; facteur relatifs à la méthode, effectuée de manière discontinue et spécifique à l'individu (mise en forme) ; facteurs relatifs aux conditions atmosphériques telles que l'humidité et la température (traitements post-filage)... l'industrie agricole étant loin de l'industrie chimique quant au déroulement des procédés. De plus, par l'aspect fini de la réserve des glandes (comparable au procédé par batch), associé à un contrôle, la section diminue depuis l'extérieur du cocon vers l'intérieur, notamment pour le petit côté [Prez 98] [Zhan 07].

La soie se caractérise par un comportement visco-élasto-plastique [Part 96]. C'est-à-dire que son comportement est dépendant du temps, et qu'au delà d'une certaine charge, son comportement en décharge se caractérise par un retour élastique et une rémanence plastique. Les définitions nécessaires à la compréhension de la caractérisation mécanique sont décrites dans la partie 2.4. Les valeurs de module, de contrainte et déformation à la limite élastique, et de contrainte et déformation à rupture sont décrites pour la soie de *Bombyx mori* dans le tableau 1.11. Ces propriétés mécaniques sont dépendantes de l'environnement et notamment des conditions d'humidité et de température [Mart 07], voir le tableau 1.12. Les propriétés mécaniques de soie modifiée par traitement chimique, physique, ou mélange ont également été décrites [Kawa 96] [Park 99] [Mars 05] [Kino 07] [Tao 10].

Nous avons vu que pour réduire la variabilité et les défauts de la soie, la soie régénérée pouvait apporter une réponse. Cependant, ses propriétés restent bien inférieures à la soie produite naturellement [Holl 07], voir tableau 1.13(a). Une des alternatives proposées est la soie filée à partir de vers vivants en contrôlant la vitesse

[6] Site internet de l'Institut Français du Textile et de l'Habillement (*www.ifth.org*)

de filage ('forced silking'), modifiant ainsi la microstructure et les propriétés mécaniques, et limitant des défauts dus à la discontinuité du filage naturel par la méthode en 'huit' [Shao 02], voir tableau 1.13(b). Cependant, la faisabilité industrielle d'un tel procédé est loin d'être imaginable.

Il est raisonnable de penser que le décreusage a un impact sur les propriétés mécaniques. Toute la question est de le quantifier. Les résultats semblent plutôt montrer qu'il est négligeable fasse à la variabilité. Pérez-Rigueiro, en 2002, a publié sur ce sujet, sans être réellement convainquant, où soie filée par filage forcé, traitements chimiques et thermiques se mélangent [Prez 02]. Il n'y a donc pas différenciation entre la suppression de la gaine et le traitement chimique ou thermique sur les propriétés mécaniques des brins. Cette confusion vient du fait que la gaine a toujours été négligée et considérée comme telle, mais jamais réellement étudiée. Cette question sera discutée plus loin (partie 3.2).

Par contre Jiang, en 2006, a comparé l'effet de différents types de décreusage. Les méthodes de décreusage ne sont donc pas comparées avec une hypothétique méthode qui permettrait de retirer la gaine sans modifier les brins, ce qui n'est pas envisageable, mais les variations relatives entre méthodes de décreusage sont observées. On constate que la proportion de variabilité (écart type divisé par la moyenne) des propriétés obtenues après décreusage est de 32% alors qu'en moyenne, celle-ci est de 3% pour tous les types de traitement. Il y a donc bien une différence entre les traitements (il faudrait faire un test d'hypothèse pour valider scientifiquement cette observation). Il n'est cependant pas possible de connaître celle qui modifie le moins les propriétés par rapport à l'état initial. Malheureusement, il a été comparé les contraintes à rupture qui ne sont pas des valeurs intrinsèques au matériau mais dépendant également de la présence de défauts. Il manque donc des données quant à la comparaison des modules initiaux, seule valeur intrinsèque. Une analyse de variance aurait donné la part de variation due au décreusage et la part de variation due à chaque méthode. Cependant, l'impact du décreusage n'aurait pas non plus pu être discrétisé entre la perte de la gaine et l'effet moyen du traitement. En tout cas, il a été observé pour chacune des méthodes les propriétés mécaniques présentées dans le tableau 1.14.

Pour finir, nous pouvons enrichir les propos précédemment exposés par quelques références aux propriétés mécaniques du grès. Ne pouvant être testée directement, ce sont des films de grès dissolu puis régénéré qui ont été testés. On peut donc imaginer que les propriétés rapportées sont inférieures à celles que l'on pourrait espérée pour le grès présent sur le fil initialement. Son module est mesuré à 1,4GPa, ce qui est loin d'être négligeable, sachant qu'elle est régénérée est représente déjà environ 10% du module de la fibroïne [Tera 08].

1.6.1.2 De la soie d'araignée

La soie d'araignée a également un comportement visco-elasto-plastique. La mesure de la section est également sensible mais la soie d'araignée reste bien plus circulaire, ce qui permet un calcul de sa section raisonnablement par mesure de son diamètre [Gliv 07b]. Les caractéristiques mécaniques de la soie d'araignée sont décrites dans les tableaux 1.15 1.16 1.17. On peut remarquer que les valeurs sont dispersées, ceci s'explique par la diversité des races, les araignées n'ont en effet pas été sélectionnées comme l'a été le ver à soie ; de plus, une partie des variations s'expliquent par rapport aux effets de vitesse [Denn 76]. En effet, il peut être observé que les propriétés (module initial, contrainte et déformation à rupture) augmentent avec la vitesse de traction. On peut tout de même constater que les propriétés sont supérieures au fil de ver à soie et même à certaines fibres synthétiques de polyamide et de polyéthylène téréphtalate. Les informations quant à la mécanique du fil d'araignée sont donc très fournies en données. Cependant, le comportement en tant que tel et sa compréhension n'a jamais vraiment été abordé d'un point de vue mécanique, seulement d'un point de vue biologique...

La soie d'araignée présente une particularité supplémentaire par rapport à la soie de *Bombyx mori*, c'est qu'elle se contracte dans certains solvants, l'eau notamment [Jeli 99] [Shao 99a]. Ce phénomène a été appelé 'supercontraction'. Il résulte en un raccourcissement de la longueur de la fibre dû au gonflement de la fibre par absorption d'eau [Guin 05a]. Ceci provoque une modification des propriétés mécaniques, avec une diminution de la raideur et une augmentation de la déformation à rupture, ce qui s'assimile à un effet plastifiant à long terme. Il semble donc que ces solvants ont la possibilité de se lier intimement à la matière conférant de nouvelles propriétés [Liu 05] [Liu 08].

Pour finir, comme pour le *Bombyx mori*, la soie d'araignée peut être modifiée physiquement ou chimiquement pour contrôler ses propriétés. C'est ce qu'il a été proposé par revêtement métallique résultant en des propriétés assez exceptionnelles. Donc, même si ces résultats nécessitent de prouver leur reproductibilité, cette voie de recherche pourrait présenter un intérêt évident [Lee 09].

	Meredith 45 [Mort 75]	[Duna 95]	[Tsuk 96]	[Prez 00a] [Prez 00b]	[Poza 02]	[Fedi 03]	[Chat 05]	[Zhao 07b]
S (∅) (μm)				(9,3)		158		(17,1)
E_i (GPa)	9,7	15,8	4,3	16,0	16		6,6	12,2
σ_y (MPa)	208	306		230				131
ϵ_y	0,033	0,19		0,013				
σ_u (MPa)	507	968	761	650	650	740	253	264
ϵ_u	0,23	0,31	0,24	0,17	0,15	0,24	0,23	0,11

TAB. 1.11 – Caractéristiques mécaniques de la fibre de soie de *Bombyx mori*

Condition (*)	Humide [Prez 00a] [Prez 00b]	Humide [Chat 05]	Sec (solvant) [Prez 00a]
E_i (GPa)	4,3 (27%)	5,7 (86%)	20 (125%)
σ_y (MPa)			
ϵ_y	0,011 (85%)		0,013 (100%)
σ_u (MPa)	514 (79%)	240 (95%)	780 (120%)
ϵ_u	0,270 (159%)	0,135 (99%)	0,066 (39%)

TAB. 1.12 – Caractéristiques mécaniques de la fibre de soie de *Bombyx mori* en humidité, (*) : normalisation par les conditions standards

	[Liiv 98] Fibre	[Liiv 98] Fibre	[Plaz 09] Fibre	[Jian 07] Film
∅, e (μm)	∼40	∼60	41	85-430
E_i (GPa)			12,2	2,8-6,5
σ_u (MPa)	∼100	∼50	320	
ϵ_u			0,06	

(a)

	[Prez 01]	[Khan 08]			
		Vitesse de filage (cm.min^{-1})			
	∼1cm.s^{-1}	60	120	180	240
∅	8,2	13,5	11,6	10,6	8,0
E_i	15,6	7,4	11,5	11,5	23,0
σ_y	540				
ϵ_y	0,015				
σ_u	440	225	318	350	650
ϵ_u	0,207				

(b)

TAB. 1.13 – Caractéristiques mécaniques de soie régénérée (a) et obtenue par filage forcé (b)

Méthode	Eau distillée Neutre	Tampon de borate pH basique (7,8-9,6)	Acide succinique pH acide (4,1-5,6)	Carbonate de sodium Détergent	Urée Dénaturant
E_i (GPa)	4,5	9,6	6,5	5,9	5,0
σ_y (MPa)	100	150	110	130	100
ϵ_y	0,028	0,027	0,025	0,026	0,026
σ_u (MPa)	250	410	280	370	300
ϵ_u	0,26	0,24	0,25	0,23	0,24

TAB. 1.14 – Caractéristiques mécaniques de soie décreusée

	N. clavipes selon Cunnliff, 1994 *	*N. clavipes* [Swan 06]	*N. edulis* [Shao 99a]	*N. edulis* (humide) [Shao 99a]
E_i (GPa)	22	13,8	10,4	2,7
σ_u (MPa)	1300	1215	1104	806
ϵ_u	0,12	0,17	0,23	0,29

TAB. 1.15 – Caractéristiques mécaniques de la MaSp chez *Nephila*, * : voir [Gosl 99]

	A. seriaticus (lent) [Denn 76]	*A. seriaticus* (rapide) [Denn 76]	*A. diadematus* [Gosl 99]	*A. diadematus* [Elic 09]	*A. diadematus* [Shao 99b]	*A. diadematus* (humide) [Shao 99b]
E_i (GPa)	9,8	20,5	10	3,2	6,5	1,6
σ_u (MPa)	650	1120	1100	460	810	500
ϵ_u	0,24	0,27	0,27	0,29	0,22	0,25

TAB. 1.16 – Caractéristiques mécaniques de la MaSp chez *Araneus*

	A. argentata [Blac 06]	*A. argentata* [Swan 06]	*A. argentata* [Elic 09]	*A. trifasciata* [Guin 05b]	*A. trifasciata* [Elic 09]	*L. hesperus* [Shao 99a]	*L. mactans* [Swan 06]	*L. mactans* (humide) [Shao 99a]
E_i (GPa)	8	8,2	4	11,2	3,2	10,4	10,2	3
σ_u (MPa)	1500	1463	420	1192	440	1000	1441	836
ϵ_u	0,25	0,18	0,30	0,20	0,24	0,28	0,30	0,32

TAB. 1.17 – Caractéristiques mécaniques de la MaSp chez *Argiope* et *Latrodectus*

1.6.2 Les autres caractérisations

De nombreuses informations peuvent également être apportées par les essais en température. Ainsi, par calorimétrie (Differential Scanning Calorimetry et Temperature-Modulated Differential Scanning Calorimetry), il a pu être observé une température de transition vitreuse (T_g) à 178-179°C à l'état sec pour la phase amorphe, un pic exothermique à 212°C de cristallisation, et un pic endothermique de fusion-dégradation centré à 263-264°C [Watt 99] [Agar 97]. On peut donc remarquer que la soie est un polymère protéique extrêmement stable. Les protéines cellulaires étant rarement stables au dessus de 50-60°C, menant à un phénomène de dénaturation, perte de la conformation spatiale. Il est aussi possible de remarquer qu'il n'y a pas de pic endothermique de fusion cristalline propre, car celui-ci est certainement concomitant au pic de dégradation. La dégradation est confirmée par des essais gravimétriques en température (ThermoGravimetric Analysis), celle-ci commence approximativement à partir de 200°C. La température de transition vitreuse varie en fonction du taux d'humidité et du taux de cristallinité [Agar 97] [Hu 06] [Hu 07]. Elle diminue donc par la présence d'eau (effet plastifiant de l'eau) et augmente par le taux de cristallinité. Ces résultats permettent de mettre en lumière l'aspect microstructural de la soie avec un réseau macromoléculaire reliant les cristallites aux zones amorphes. Contrairement aux fibres synthétiques où phase amorphe et phase cristalline sont relativement bien différenciées. Celles-ci sont reliées dans la fibroïne menant à une matière biphasée ou les macromolécules désordonnées peuvent venir se stabiliser autour des cristallites existants mais restent reliées au reste de phase amorphe. Ceci induit une limitation dans les degrés de liberté de la phase amorphe justifiant l'impact de la cristallinité sur la Tg. De plus, l'eau semble se lier intimement à la matière menant à une variation de la Tg en fonction du taux d'humidité. La Tg atteint 39°C pour une humidité relative (Relative Humidity) de 75%.

Il a été observé pour la soie d'araignée que la Tg se situait aux alentours de 150-160°C. Les hypothèses précédemment décrites sont validées pour ce type de soie mais nécessite un phénomène parallèle de fusion des petites cristallites pendant le traitement en température [Gliv 07a].

La soie a également été caractérisée sous de nombreux autres aspects tels que la rhéologie [Holl 06] [Koji 06], l'étude de sa perméabilité [Li 09] [Blos 10]...

1.6.3 Lien entre les échelles, microscopique et macroscopique, référence aux modèles existants

Il existe un lien clair entre comportement mécanique et microstructure. Ceci a pu être observé depuis bien longtemps, justifiant l'importance de la composition et des procédés sur les fibres industrielles. Cette démarche va être présentée dans cette partie.

1.6.3.1 Les théories sur les fibres

Ce lien entre microstructure et comportement macroscopique a été observé et discuté depuis longtemps pour les polymères synthétiques et naturels semi-cristallins [Segu 05] [Youn 07]. Il en résulte la recherche d'une compréhension microstructurale la plus avancée possible afin d'expliquer le comportement mécanique. En effet, au delà du seul rapprochement entre taux de cristallinité et module initial souvent corrélés, le degré d'orientation et l'ensemble de l'architecture de la microstructure sont importants à prendre en compte. Ainsi, au delà de la composition chimique qui différencie des fibres naturelles telles que le coton ou la laine et les fibres synthétiques telles que le polyamide, le poly(éthylène) téréphtalate ou les fibres de carbone, celle-ci va conférer à la fibre sa microstructure.

Dans l'exemple des polymères synthétiques, la première modélisation de la microstructure à partir des années 1930 était basée sur les micelles à franges ne représentant que deux phases. Puis, dans les années 1955-1965, le modèle à fibrilles à franges à permis de justifier l'observation de fibrilles [Mort 75]. Associé à cela, les modèles sont devenus en trois phases discrétisant phase cristalline, phase amorphe et phase amorphe orientée. Ainsi, Prevorsek, en 1973, propose des microfibrilles constituées de phase amorphe et phase cristalline en série. Les microfibrilles étant séparées les unes aux autres par de la phase amorphe orientée en parallèle.

A partir de ces propositions, on peut établir une vision bien plus complexe de la matière mais plus réaliste où les macromolécules jouent un rôle important dans la transmission de l'effort entre les différentes phases. Sans tomber dans l'excès de complexité qui limite la compréhension sans répondre forcément aux facteurs principaux du comportement, les modèles se précisent et s'enrichissent des observations toujours plus précises et à des résolutions toujours plus fines.

1.6.3.2 Pour la fibre de *Bombyx mori*

On peut observer l'importance de la microstructure sur les propriétés mécaniques en étudiant la corrélation entre ces différents facteurs. Il a été constaté pour des vers à soie *Bombyx mori* et des races sauvages une corrélation positive entre vitesse de filage et cristallinité, et négative entre vitesse de filage et diamètre de section. De plus, ces facteurs structuraux sont corrélés avec le module initial, la contrainte à rupture (σ_r) et la déformation à rupture (ϵ_r). Ainsi, une vitesse de filage plus élevée diminue le diamètre des fibres et augmente la cristallinité, ce qui élève le module initial et la σ_r et diminue la ϵ_r [Iizu 83]. Ceci a également été observé pour du filage forcé avec l'observation supplémentaire que la vitesse de filage est également positivement corrélée avec l'orientation des cristallites [Khan 08]. Cristallinité et fonction d'orientation ont le même effet que la diminution de la taille des cristallites [Sen 04] [Kete 10]. Ceci peut s'expliquer par un cisaillement variable au niveau de la filaire selon les vitesses de filage.

La microstructure a donc bien un effet sur la mécanique, il s'agit maintenant d'évaluer son impact. On peut tout d'abord observer l'évolution des variables locales en fonction de l'état macroscopique. Sous contrainte, la fibre subit des déformations localement dans ses phases cristallines et amorphes. Ceci a été montré par la déformation de la maille cristalline observée en diffraction aux rayons X [Naka 89] et la déformation des liaisons covalentes par spectrométrie Raman [Siri 03] [Colo 08] [Lefe 09]. Certains auteurs tentent d'obtenir le module initial de la phase cristalline en utilisant les données de déformation obtenues à l'échelle locale [Kras 08]. En effet, il y a une corrélation linéaire positive entre la déformation des liaisons covalentes de la chaine carbonée et la contrainte globale. Il serait donc possible d'obtenir la valeur du module initial de la phase cristalline si le système était en série, ce qui sous-entend que la contrainte globale est égale à la contrainte locale, seul moyen de calculer un module de phase. Cette hypothèse liant la contrainte locale et la contrainte globale a été proposée en se basant sur des résultats obtenus sur des fibres aramides parfaitement orientées [Colo 02]. Mais il a été constaté dans le cas de la soie que cette valeur de module augmente en fonction de la cristallinité. Or elle devrait être intrinsèque à la matière cristallisée [Sins 02], cette représentation n'est donc pas légitime. Même si il est possible que le module ainsi calculé tende vers la valeur asymptotique d'un cristal parfait, l'hypothèse d'un système en série ne semble pas vérifiée. Ceci a également été observé par spectrométrie Raman, où la largeur à mi-hauteur des pics est corrélée à la déformation globale, ce qui montre que le nombre de modes pour les liaisons covalentes augmente et donc qu'il apparait de plus en plus de contraintes locales différentes [Siri 03]. Il a cependant été proposé des valeurs de module pour la phase cristalline allant de 20 à 30GPa [[Naka 89] : 23, [Sins 02] : 20-28, [Seyd 07] : ∼30, [Kras 08] : 26,5 [Kete 10] : 22,6], et pour la phase amorphe de l'ordre de 6,3-6,6GPa [Kras 08]. Enfin, un module de cisaillement a été proposé grâce à la méthode de MDS (Molecular Dynamic System) à 4,6GPa [Kete 10].

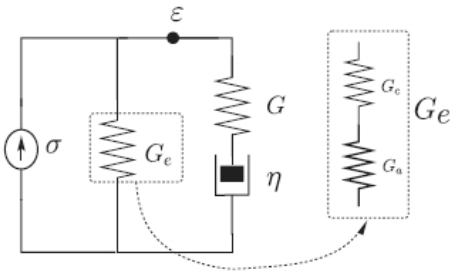


FIG. 1.15 – Proposition de modèle [Kras 08]

Pendant la traction d'une fibre de soie, d'autres phénomènes non élastiques sont observables sur la microstructure. Ainsi, il y a la possibilité de transition depuis la soie de type I vers la soie de type II par orientation des chaines macromoléculaires [Asak 02], de même qu'une désorientation des cristallites par déformation de la phase amorphe [Lefe 09]. Le comportement purement élasto-plastique de la phase cristalline est également observable [Kras 08]. Ceci a permis d'arriver à la proposition d'un modèle basé sur le modèle de Maxwell, voir la figure 1.15. Ainsi, les modules, cristallin et amorphe, sont en série. Mais, une partie reste en parallèle, plutôt relative à la phase amorphe, témoignant d'une réponse élastique proche du module de la phase amorphe, et d'une réponse visqueuse. Ce modèle permet de répondre à une partie de la complexité entre un système en parallèle et en série tout en restant relativement simple. Les conclusions proposées mènerait à unifier le module de phase amorphe et le module de viscosité pour une meilleure cohérence.

Enfin, il peut être noté que la microstructure peut être modifiée pour contrôler le comportement mécanique. Ainsi, la cristallinité et l'orientation peuvent être contrôlées par le rapport d'étirage lors du filage de la soie régénérée [Liiv 98] [Rous 04], de même qu'un contrôle de la concentration en séricines résiduelles qui semblent influencer la cristallinité [Ki 07c]. Des traitements en température modifient la cristallinité et le réseau macromoléculaire avec une dégradation des macromolécules dès 80-130°C puis de la cristallinité à partir de 230°C [Mart 07]. Ces températures semblent étonnamment basses, tous les mécanismes ne sont donc peut être pas compris. Cependant, le module initial augmente jusqu'à 200°C, ce qui pourrait témoigner de la formation de réticulations ou l'élimination de molécules d'eau liées.

1.6.3.3 Pour la fibre d'araignée

Les fibres d'araignées revêtent une plus grande variété dans leur composition. On peut constater que la composition va influencer la mécanique au travers de la microstructure [Haya 04]. Notamment, le nombre de motifs et de microstructures est plus important. On retrouve les cristallites basées sur des motifs de poly(alanine) et la répétition du motif Gly-Ala. On retrouve également des spirales de glycine et de proline, et enfin des structures hélicoïdales dues aux motifs GGX, où X peut être différents acides aminés. La proportion de proline dans la soie va donc être un indicateur de la proportion de structures en spirale peu dépendantes des liaisons hydrogènes et donc peu sensibles à l'hydratation mais qui ont tendance à désorganiser la matière autour et faciliter son hydratation. Les propriétés mécaniques et la supercontraction sont donc fonction de la présence de proline [Liu 05] [Liu 08].

Autrement, les mêmes mécanismes que pour la soie de *Bombyx mori* ont été montrés pour la fibre de soie d'araignée. Ainsi, l'augmentation de la vitesse de filage (notamment forcé) mène à une meilleure orientation, une diminution de la taille des cristallites, et une augmentation de la distance inter-cristallites. Une valeur critique est obtenue à 20mm.s^{-1} où les macromolécules ne peuvent pas être plus étirées, et donc l'alignement et l'orientation améliorés. La distance entre les motifs cristallins est alors maximale puisqu'ils restent séparés de la séquence primaire, sans potentiel cristallin, parfaitement alignée [Riek 99b] [Du 06]. Ceci mène à un matériau dont le module initial est plus élevé, et la déformation à rupture plus faible.

La proposition de Brookes, en 2008 [Broo 08], représentant la soie d'araignée comme un matériau contenant des cristallites dans une matrice amorphe semble donc insuffisante puisque la matière qui entoure les cristallines est bien plus organisée. Elle peut être en spirale ou en hélice/amorphe, voir 1.14. Ces différentes structures ont des propriétés intrinsèques qui peuvent être modifiées par leur dimension, leur degré d'orientation et leurs interactions. Plus précisément, les cristallites sont considérées comme rigides et insensibles à des solvants tel que l'eau ; les spirales sont résilientes et insensibles à l'eau ; et les hélices et phase amorphe sont résilientes et sensibles à l'eau. Tous ces paramètres doivent être connus pour établir une microstructure. Ceci devrait permettre d'évaluer le comportement mécanique dans différents environnements.

L'évolution du comportement localement peut être observée par spectrométrie Raman [Siri 00] et FTIR [Papa 07]. On observe, comme chez le *Bombyx mori*, une corrélation entre la déformation locale et la contrainte globale. De plus, il a été observé par DRX que la déformation locale est inférieure à la déformation globale pour les cristallites. Ces résultats permettent d'imaginer un système microstructural en série. Mais la multiplication des contraintes locales pendant la déformation et une déformation des liaisons covalentes des cristallites orientées dès le début de la mise sous contrainte mènent à un système en parallèle. On voit donc que la microstructure de ce type de fibres est complexe et que la simplification vers des modèles usuellement utilisés pour décrire la microstructure de fibres synthétiques ou l'élaboration de modèles mathématiques simplifiés reste difficile.

On peut noter que des méthodes telles que l'AFM ont été utilisées pour décrire le comportement à l'échelle moléculaire. Cependant, l'analyse de ce type de technique est complexe et les interprétations peuvent varier. Une proposition intéressante ne conclue pas à une diversité des liaisons à l'échelle nanométrique mais à une disposition en réseau plus ou moins réticulé justifiant le comportement observé [Orou 02] [Beck 03].

1.7 Conclusions : capacités, objectifs, applications

Malgré sa longue histoire, la soie n'est pas encore comprise dans son ensemble, notamment pour une application industrielle, on peut constater que l'empirique prévaut sur le scientifique. Ceci s'explique par la complexité importante de ce type de matériaux. Pourtant, l'intérêt pour ses propriétés est grand.

On constate qu'il existe depuis longtemps dans la Nature des méthodes de filage à température ambiante pour un polymère dont les propriétés mécaniques sont proches des polymères synthétiques modernes tels que le polyamide et le poly(éthylène) téréphtalate. Les propriétés de ces polymères naturels présentent même un avantage en combinant raideur et déformabilité résultant en une ténacité supérieure aux polymères synthétiques. Pour comprendre ces propriétés mécaniques, l'étude de la microstructure est indispensable. Il a donc été observé que ce complexe de protéines avait l'avantage de pouvoir être contrôlé sous forme de gel par un ajustement des conditions ioniques et acides lors de la production. Puis, le filage résulte en une solidification irréversible par cristallisation d'une partie du polymère grâce à un cisaillement contrôlé. Les cristallites formées présentent la particularité d'être reliées entre elles par les mêmes macromolécules, ou non, grâce à des liaisons covalentes et liaisons faibles. Ce réseau macromoléculaire permet d'exploiter les qualités des zones ordonnées menant à un module initial intéressant et des zones non ordonnées menant à une déformabilité maintenue. La soie a donc cette qualité de garder une déformabilité importante à un taux de cristallinité élevé, associé à un degré d'orientation important.

Notamment, la soie d'araignée présente des performances réellement innovantes. Cependant son exploitation à une échelle industrielle est inenvisageable par les difficultés de manipulation de ces espèces. La soie de *Bombyx mori* possède donc également l'avantage d'être issu d'un organisme vivant et peut être modifiée, améliorée par voie génétique. Ses performances naturelles sont déjà la source d'un bio-mimétisme pour les fibres industrielles, elles peuvent être même optimisées par voie génétique par l'incorporation de gènes d'araignées dans le génome.

Ces performances mécaniques sont associées à des propriétés de biocompatibilité et de biodégradabilité intrinsèques à sa nature protéique qui permettent d'envisager la soie comme un candidat de choix pour les applications biomédicales. Il a donc été développé de la soie régénérée qui permet un contrôle des formes et des propriétés de cette soie artificielle. Elle peut ensuite être modifiée chimiquement pour lui conférer d'autres propriétés utiles, ceci est également favorisé par sa nature protéique qui permet l'existence de nombreuses fonctions chimiques.

Cependant, tout n'est pas encore compris. Et l'avenir de la soie est dépendant de la compréhension des mécanismes liant sa microstructure à ses propriétés mécaniques. Il s'agit donc maintenant d'établir au mieux cette relation afin d'optimiser la composition et les procédés afin de développer des matériaux innovants présentant des propriétés répondant aux applications dans la haute technologie et le biomédical.

Chapitre 2

Matériaux et méthodes

Sommaire

2.1 Nomenclature des soies utilisées **41**
2.1.1 Cocons UNS 41
2.1.2 Organismes génétiquement modifiés 41
2.1.3 Organismes témoins de la modification génétique 41
2.1.4 Fil industriel 42
2.1.5 Fil industriel décreusé 42
2.1.6 Fibroïne extraite de la glande 42
2.2 Méthodes de traitement **43**
2.2.1 Dévidage du cocon 43
2.2.2 Décreusage 43
2.3 Techniques d'observation **44**
2.3.1 Procédés préalables pour la mesure de la section 44
2.3.2 Observations en microscopie 44
2.3.3 Analyse d'image 44
2.4 Essais mécaniques **45**
2.4.1 Préparation de l'échantillon 45
2.4.2 Universal Fibre Tester 45
2.4.3 Variété de tests 46
2.4.4 Exploitation des résultats de traction 46
2.4.5 Exploitation des résultats de relaxation et de fluage 48
2.4.6 Exploitation des essais complexes 48
2.4.7 Essais en humidité saturante 49
2.4.8 Essais en température 49
2.5 Diffraction aux rayons X **50**
2.5.1 Diffraction aux rayons X sur film 50
2.5.2 Diffraction aux rayons X par Wide Angle X-ray Scattering 51
2.5.3 Diffraction aux rayons X par Small Angle X-ray Scattering 51
2.6 Spectrométrie RAMAN **52**
2.7 Modèles numériques **53**

Cette partie cherche à témoigner des matériaux et des méthodes utilisés pendant cette étude. Il est en effet indispensable pour la clarté et la reproductibilité des données de connaître précisément les procédés expérimentaux utilisés.

Les matériaux y sont référencés et chaque méthode y est décrite précisément.

2.1 Nomenclature des soies utilisées

Différents matériaux ont été utilisés au cours de l'étude.

2.1.1 Cocons UNS

Tout d'abord, l'UNS a fourni de la soie sous forme de cocons produits à une échelle expérimentale. Trois cocons ont ainsi été testés : Co1, Co2 et Co3. Ce sont des cocons produits par des vers *Bombyx mori* traditionnellement utilisés en industrie pour fournir de la soie. La mesure de la section moyenne n'a été effectuée que sur le cocon Co3.

Un autre matériau avait été fourni, sous forme de flotillons, qui était produit en imitant le procédé industriel par dévidage des cocons et enroulement du fil. Cependant, il a été préféré, par soucis de reproductibilité, et afin de limiter l'historique des traitements, de ne pas poursuivre l'étude de ce matériau et privilégier un unique traitement de dévidage des cocons fournis.

2.1.2 Organismes génétiquement modifiés

L'UNS a également fourni de la soie produite par des organismes génétiquement modifiés par biotechnologie, cette innovation n'est obtenue que dans ce laboratoire. La modification génétique consiste en l'intégration d'un segment de 'gène type' d'araignée *Nephila clavipes* dans le génome du *Bombyx mori*. Pour cela un vecteur Piggybac a été construit comprenant deux séquences de gènes sous deux promoteurs distincts, ce qui fait qu'ils s'exprimeront dans des tissus différents, voir figure 2.1. Dans chacune de ces séquences est inclus un gène marqueur, gène de la protéine fluorescente GFP (Green Flurorescent Protein). La séquence 3xP3-GFP s'exprime dans les yeux, ce qui permet de suivre l'intégration de la construction dès la fin du développement embryonnaire. La séquence Fhx-E1-I1-GFP-Spidroïne-3'H$_{Fib}$ contient une GFP qui en tant que protéine de fusion avec la spidroïne, permettra de quantifier cette dernière. Le segment de spidroïne (MaSp1) est : [SQGAGRGGQ(GA)$_2$(A)$_5$GGAGQGGYGGLGSQG]$_{19}$.

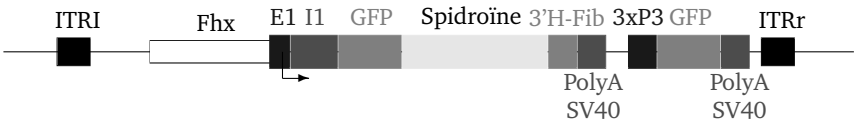


FIG. 2.1 – Organisation du transposon Piggybac servant à la modification génétique

La protéine fluorescente (GFP : Green Fluorescent Protein) permet donc la reconnaissance des vers ayant intégré le gène correctement. Elle constitue également, avec le fragment de spidroïne, une protéine fusion. Cet insert, qui peut être considéré comme l'information nécessaire aux protéines d'intérêt (GFP et spidroïne), est bien produit par le ver. Environ 3% de la matière est, en effet, issue de la portion de gène d'araignée. Cette protéine fusion est liée de manière covalente à la chaine lourde de fibroïne par pont di-sulfure. La protéine fusion prend donc la place de la chaine légère. Les mécanismes d'assemblage n'ont pas été étudiés plus en détail.

Quatre cocons issus des organismes génétiquement modifiés (GMOi, GMO1, GMO2 et GMO3) ont été testés. La section moyenne du cocon GMOi n'a pas été observée.

2.1.3 Organismes témoins de la modification génétique

Cette modification génétique a été effectuée sur la race Nistari du *Bombyx mori*. Afin, d'observer l'influence de la modification génétique en tant que facteur principal sur les propriétés mécaniques et la microstructure, il a donc été comparé les valeurs avec des cocons témoins produits par des vers *Bombyx mori* Nistari. Ainsi, deux cocons témoins ont été testés (Tem1 et Tem2).

2.1.4 Fil industriel

Pour des soucis de réduction de la dispersion et afin de donner une orientation plus appliquée à l'étude de la soie, un fournisseur industriel a été recherché. Cet industriel, *Perrin et fils*, est une des grandes entreprises de la transformation de la soie en France. Il se fournit principalement au Brésil, d'où proviennent les flottes qu'il nous a transmis. Le titre de ce fil industriel de première qualité est de 20-22 deniers, c'est-à-dire qu'il est calibré à 20-22 deniers.

Il a été obtenu après dévidage de différents cocons, produisant la flotte. Un premier traitement a donc été effectué. Cependant, en tant que traitement industriel, nous pouvons considérer que celui-ci est homogène et que les différents segments de la flotte ont vu le même historique de traitements. Une flotte mesure environ cent kilomètres de long, tous les essais ont donc été effectués sur des échantillons extraits de la même flotte.

Le fil industriel est considéré comme le matériau standard pour cette étude, il est noté St (pour Standard) dans la suite du rapport.

2.1.5 Fil industriel décreusé

Afin d'étudier plus particulièrement les brins de fibroïne, certains fils industriels ont été décreusés selon la méthode présentée dans la partie 2.2. Ceci permet également d'extraire les fibres unitaires (brins) composant le fil industriel et de faire une étude multi-échelle du fil industriel.

Les fils décreusés seront notés Std (pour Standard décreusé) et les brins seront notés StdU (pour Standard décreusé Unitaire).

2.1.6 Fibroïne extraite de la glande

Des glandes séricigènes ont été disséquées afin d'extraire le gel de fibroïne polymérisé après séchage. Fibroïne et grès sont alors dans un état solide déshydraté sans avoir passé la filière. Le grès entoure le gel de fibroïne et peut être facilement enlevé une fois sec.

2.2 Méthodes de traitement

Afin d'étudier au mieux la fibre de soie, certains traitements chimiques sont nécessaires. Il est difficile d'analyser leur impact, une analyse de variance pourrait répondre en partie à cette problématique. Cependant, aucune étude de ce type n'a été effectuée.

2.2.1 Dévidage du cocon

Le dévidage consiste en un mouillage du grès afin de permettre un décollement du fil du cocon pour effectuer l'extraction de celui-ci. Cette étape est indispensable afin d'étudier les propriétés du fil le long du cocon. De plus, elle présente une reproductibilité acceptable. En effet, des cocons ont premièrement été exploités en utilisant les fils accessibles à l'extérieur qui ont montré des valeurs de propriétés anormalement basses et une dispersion des valeurs excessive. Ceci est certainement dû à un endommagement au cours du stockage des cocons. Il a donc fallu extraire les fils composant l'intégralité du cocon.

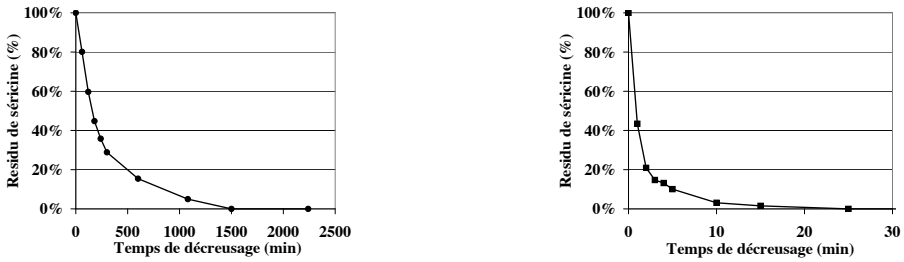
Les cocons ont été plongés dans un litre d'eau distillée porté à ébullition pendant trente minutes, jusqu'à ce que le fil commence à se détacher. Une fois le bout extérieur du fil détaché, celui-ci est dévidé sur un support cylindrique adéquat. Ce procédé a été effectué de manière manuelle, ce qui n'assure ni une vitesse constante de l'enroulement ni un contrôle de la force appliquée. Cependant, un maximum de précaution a été pris afin de maintenir au mieux celles-ci constantes.

Le fil enroulé obtenu a servi pour être observé en microscopie, testé en traction mécanique, et étudié en diffraction aux rayons X et spectrométrie Raman.

2.2.2 Décreusage

Pour étudier plus précisément les propriétés des brins de fibroïne, il a été décidé le décreusage de certains fils industriels. Cette étape consiste en maintenir la soie dans un bain d'eau distillée ou une solution de carbonate de sodium (1g/L) portés à ébullition afin de solubiliser l'ensemble du grès et ne garder que la fibroïne. Ceci est permis par le fait que la fibroïne n'est pas soluble dans ces solutions contrairement au grès.

Pour comparer les deux méthodes, une cinétique de décreusage a été obtenue par mesure de la masse sèche au cours du décreusage. Ainsi, une masse connue de fil standard industriel a été plongée dans une solution de décreusage pour une durée déterminée. Puis, les fibres ont été séchées dans un dessiccateur à Silicagel jusqu'à une stabilisation de leur masse. Cette opération a été répétée jusqu'à un décreusage complet, voir figure 2.2.



(a) (b)

FIG. 2.2 – Cinétiques de décreusage en eau (a) et en solution de carbonate de sodium (b)

On observe que la vitesse de décreusage en solution de carbonate de sodium est plus rapide qu'en eau distillée, respectivement $7200.10^{-6}s^{-1}$ et $42.10^{-6}s^{-1}$.

En pratique, les fibres ont été décreusées dans une solution de carbonate de sodium à 1g/l portée à ébullition pendant quinze minutes puis rincée dans de l'eau distillée portée à ébullition pendant cinq minutes. Pour comparer, quelques fils industriels ont été décreusés à l'eau distillée. Pour ceci, les fibres ont été maintenues pendant vingt heures dans de l'eau distillée portée à ébullition.

Afin d'éviter que des noeuds se forment ce qui ne permet pas d'exploiter les fibres après traitement, les fibres étaient maintenues sur un cadre métallique, collées par de la colle cyano-acrylate.

2.3 Techniques d'observation

2.3.1 Procédés préalables pour la mesure de la section

Pour mesurer la section, il faut s'assurer premièrement que l'observation se fait bien perpendiculairement à l'axe du fil. Pour ceci, les fils sont glissés dans un tube métallique pour les maintenir parallèles et contrôler leur direction. Puis, le tube est maintenu verticalement, enrobé dans une résine époxy, Epofix de Struers. Le plot ainsi obtenue est poli miroir jusqu'à 1μm (taille des particules de la pâte diamant), prêt pour les observations microscopiques.

2.3.2 Observations en microscopie

Le microscope optique utilisé est un Zeiss Axiovert 405 M. Les images prises sont obtenues par le logiciel ACT-1.

La microscopie électronique à balayage :

La soie est un polymère non conducteur, il doit donc être rendu comme tel par métallisation d'or et de palladium. L'instrument utilisé a cet effet, est un Cressington sputter coater 208 HR associé à un Cressington thickness controller mtm 20, permettant une métallisation de 3nm. La soie est également un polymère fragile, il faut donc utiliser des tensions d'accélérations basses, inférieures à 10keV. Pour cela, un microscope électronique à effet de champ est à privilégier, il a été utilisé un Zeiss, DSM 982 Gemini, pour les observations. Cependant, la chambre d'observation est alors trop petite pour y insérer une machine de traction. Il a alors été utilisé un LEO 1450 VP.

2.3.3 Analyse d'image

Pour s'assurer de l'échelle observée au microscope électronique, un réseau permet un étalonnage précis de la mesure, voir figure 2.3.

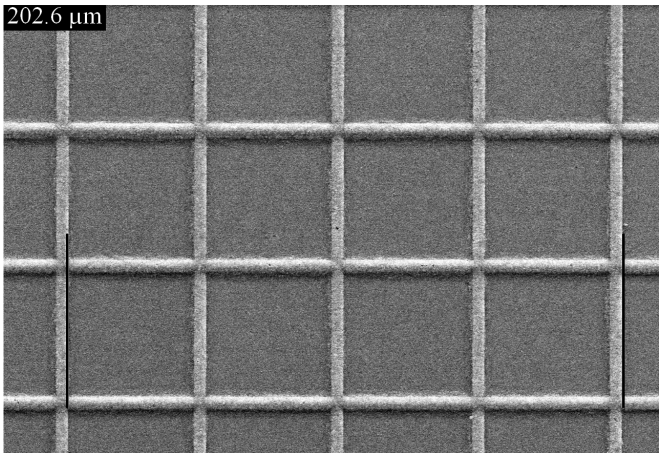


FIG. 2.3 – Réseau observé en microscopie électronique servant à l'étalonnage de la méthode de mesure de la section par analyse d'image, les deux barres verticales noires sont séparées de 202,6μm

Ensuite, les images sont modifiées par le logiciel ImageJ afin d'améliorer le contraste et la luminosité pour extraire les surfaces d'intérêts du reste de l'image. Cette méthode reste malheureusement assez subjective, mais peu d'options sont possibles et réalisables.

2.4 Essais mécaniques

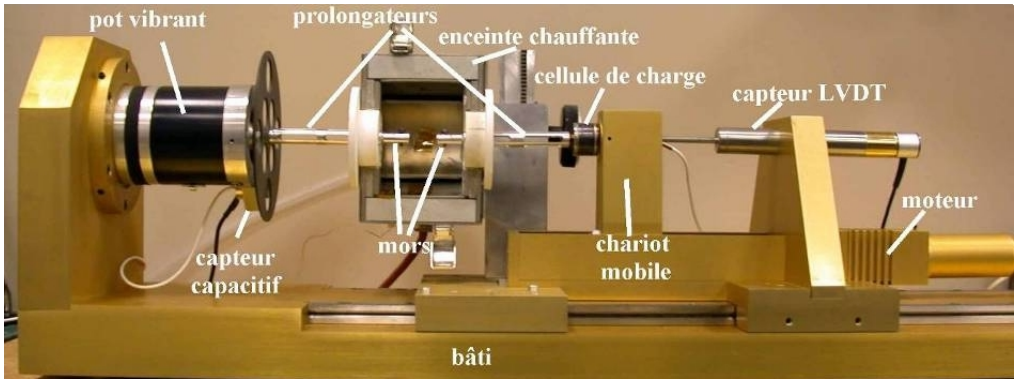
2.4.1 Préparation de l'échantillon

La longueur de jauge des fibres est contrôlée et à chaque bout sont placés deux morceaux de carton collés par de la colle néoprène. Cette protection permet de diminuer la contrainte de cisaillement présente dans les mors et éviter une rupture prématurée de la fibre. La colle est laissée un jour à sécher avant que la fibre soit testée. Le stockage, tout comme les essais, sont effectués dans un local à atmosphère contrôlée à 21°C et 50%RH.

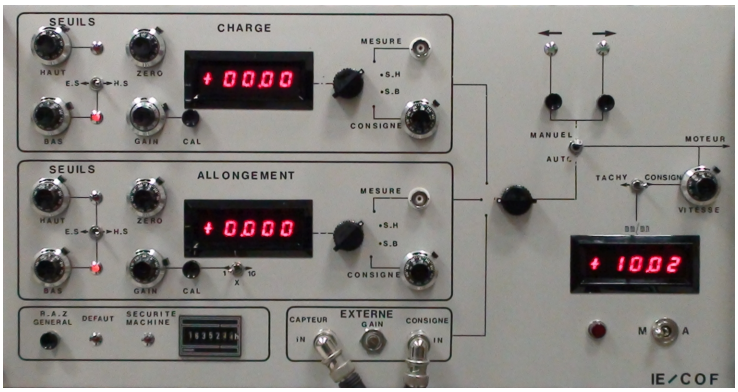
2.4.2 Universal Fibre Tester

Les essais mécaniques ont principalement été effectués avec une machine produite en interne : Universal Fibre Tester. Cette machine de traction consiste en un bloc mécanique et un bloc électronique, voir figure 2.4 [Buns 71].

- Le bloc mécanique est composé d'un mors fixe et d'un mors mobile. La longueur de jauge initiale peut être ajustée facilement. Ensuite, pendant l'essai, un moteur permet de contrôler le déplacement du mors mobile. Associés au mors mobile, un capteur de charge de 2N et un Linear Variable Differential Transfomer (LVDT) permettent de connaître avec précision la mesure de la charge et du déplacement à chaque instant.
- Le bloc électronique permet un contrôle optimal de la charge ou du déplacement en fixant des vitesses, des limites à atteindre, des seuils, etc... Ce qui permet d'effectuer des tests de traction, du fluage, de la relaxation et de la fatigue.



(a)



(b)

FIG. 2.4 – La machine de traction utilisée, l'Universal Fibre Tester, est constituée d'un bloc mécanique (a) et d'un bloc électronique (b)

La machine peut être améliorée en apportant un pot vibrant servant aux tests en fatigue ou un four pour des tests en température.

La précision de la machine est, en pratique, d'un dixième de millimètre pour le LVDT et d'un dixième de gramme pour la cellule de charge. Pour les essais longs, un autre problème s'ajoute, c'est que l'équipement est sensible aux variations d'intensité du courant d'alimentation, parfois perturbé par d'autres installations. La précision de la charge, et du déplacement, sont alors estimées respectivement à 0,5g et 0,5mm.

Donc, pour le calcul d'erreur, on obtient les valeurs présentées dans le tableau 2.1 en prenant l'ordre de grandeur majorant.

Grandeur	Erreur	Formule	Calcul d'erreur
Section (S)	$\pm$ 1 μm	Mesure	Empirique
Charge (C)	$\pm$ 0,1 g	Mesure	Empirique
Déplacement (D)	$\pm$ 0,1 mm	Mesure	Empirique
Déformation (ϵ)	$\pm$ 0,01	ϵ=D/Lj	$\lvert\epsilon\rvert=\lvert D\rvert/30$
Force (F)	$\pm$ 0,1 mN	F=9,81.C	$\lvert F\rvert=9{,}81.\lvert C\rvert$
Contrainte (σ)	$\pm$ 1 MPa	σ=F/S	$\lvert\sigma\rvert/\sigma=\lvert F\rvert/F+\lvert S\rvert/S$
Pente$_i$ (P)	$\pm$ 0,1 N	$P=(F_1-F_0)/(\epsilon_1-\epsilon_0)$	$\lvert P\rvert/P=\lvert F\rvert/F+\lvert\epsilon\rvert/\epsilon$
Module$_i$ (E)	$\pm$ 0,1 GPa	$E=(\sigma_1-\sigma_0)/(\epsilon_1-\epsilon_0)$	$\lvert E\rvert/E=\lvert\sigma\rvert/\sigma+\lvert\epsilon\rvert/\epsilon$

TAB. 2.1 – Calculs d'erreur

Le calcul d'erreur attribut un seuil minimal de précision. Dans le reste de l'étude, la variabilité sera évaluée par le calcul de l'écart type dont l'ordre de grandeur sera limité par l'erreur expérimentale.

Pour le calcul des valeurs en contrainte, il n'est pas possible d'obtenir avec précision la section de chaque fil avant essai. Un lot indépendant de fils a donc été utilisé pour mesurer d'un côté la charge et de l'autre la section. Ce qui permet d'évaluer une valeur moyenne de la contrainte. Les essais seront donc principalement comparés en force, les valeurs de contrainte étant proposées principalement pour comparer avec la littérature.

2.4.3 Variété de tests

L'ensemble des tests a été effectué en contrôlant la déformation (vitesse de traverse constante), voir figure 3.22. En effet, il est difficile pour des systèmes tels que les fibres de mesurer la déformation locale, le déplacement de la traverse est dont usuellement utilisé. De même, il n'est pas facile de mesurer la section, les valeurs sont donc nominales et non vraies.

- Traction : les tests de traction ont principalement été effectués à une vitesse de 10 millimètres par minute pour la traverse. D'autres vitesses ont été utilisées pour évaluer la viscosité
- Relaxation : les essais de relaxation consistent en une montée en charge jusqu'à une déformation contrôlée permettant d'observer les variations de la force au cours du temps
- Fluage : les essais de fluage consistent en une montée en charge jusqu'à une force contrôlée permettant d'observer les variations de la déformation au cours du temps
- Fatigue : les essais de fatigue consistent en une sollicitation cyclique avec ajustement de la déformation pour maintenir la force maximale

2.4.4 Exploitation des résultats de traction

Les données sont acquises grâce à un logiciel, ATS. Les données obtenues dont le fil a rompu dans les mors pendant l'essai ne sont pas considérées puisque le phénomène de rupture n'est alors pas certain. Il peut être dû au cisaillement qui est présent dans les mors. Il faut donc s'assurer que la rupture ait bien eu lieu dans la longueur utile.

Les courbes sont ensuite traitées par voie informatique pour retirer les sections inutiles, être lissées et exploitées : calcul de pente et des valeurs maximales. Les valeurs aberrantes sont alors écartées pour les calculs de moyenne et d'écart type. Notamment il est important de noter que la pente initiale a été calculée en prenant la pente entre les charges 0,1-1g pour les fils extraits de cocons et 0,1-10g pour les fils industriels.

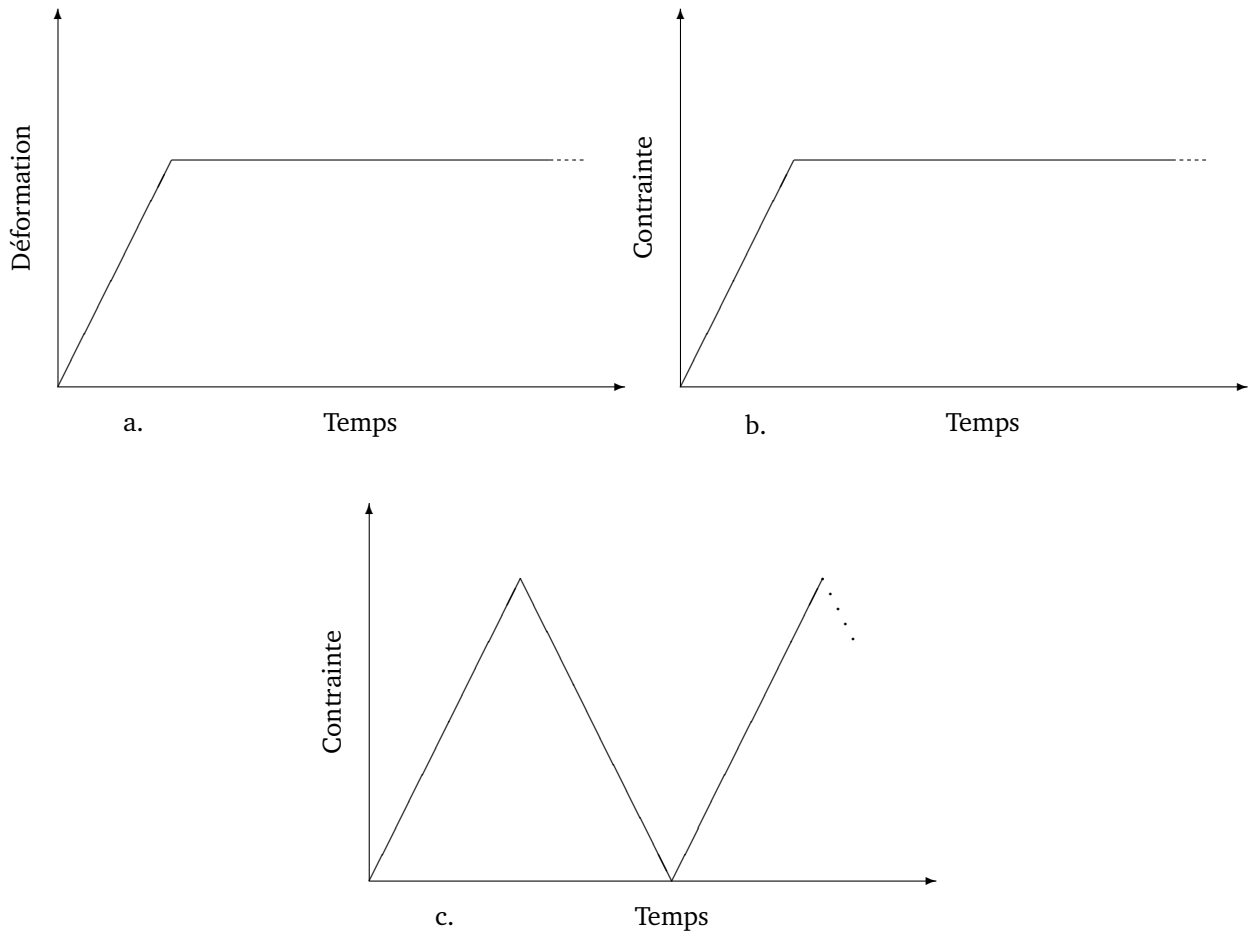


FIG. 2.5 – Schématisation des essais mécaniques de relaxation (a), fluage (b) et fatigue (c)

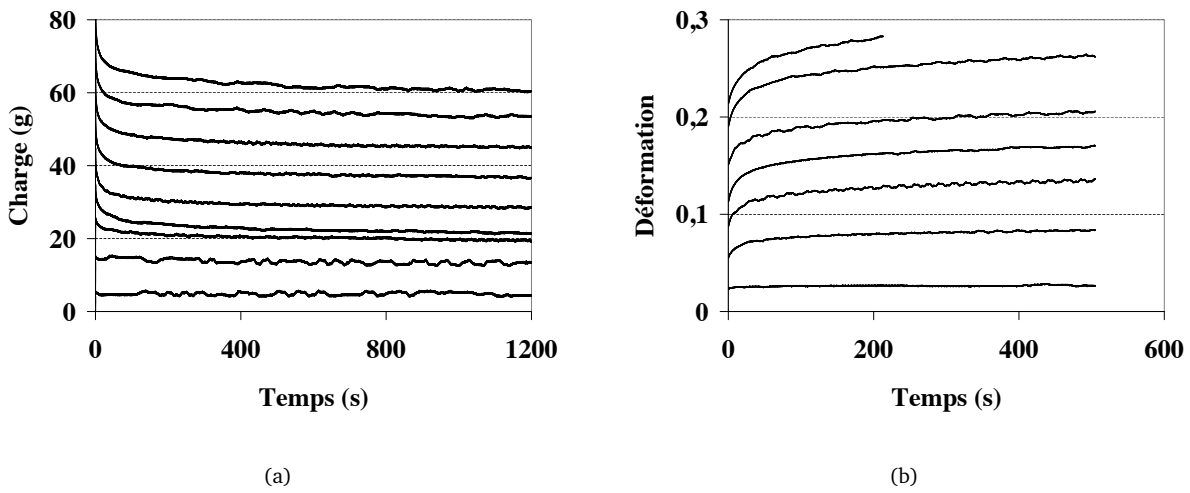


FIG. 2.6 – Courbes de relaxation à différentes déformations (a) et de fluage à différentes charges (b)

2.4.5 Exploitation des résultats de relaxation et de fluage

Les essais de relaxation et fluage nécessitent des opérations supplémentaires. Les courbes extraites de ce type d'essai sont présentée en figure 2.6.

Pour la relaxation, les courbes ont été linéarisées en logarythme népérien en abscisses et en ordonnées (hypothèse d'une loi en puissance), ce qui permet d'obtenir un temps caractéristique en prenant l'opposé de l'inverse de la pente. La relaxation a été maintenue 1200 secondes car elle peut être alors considérée à plus de 90% de la relaxation maximale du moins observable vis-à-vis du bruit et de la dérive du capteur. Pour le fluage, il a été recherché la limite du fluage primaire qui a été évaluée au maximum à 100 secondes. Ensuite, la vitesse du fluage secondaire a été calculée jusqu'à 500 secondes pour englober le plus grand nombre de charges possibles. On constate que le fluage tertiaire est quasiment inexistant, puisque la rupture semble survenir dans le fluage secondaire pour l'essai à la plus haute charge.

Les essais de recouvrance ont été effectués pendant une durée de 2000 secondes pour s'assurer une parfaite stabilisation.

2.4.6 Exploitation des essais complexes

Les essais complexes consistent en une série de cycles à force maximale croissante, un essai est présenté en figure 2.7. Chaque cycle comprend une traction (ligne noire), une relaxation (flèche en pointillé), une série de décharges alternées de relaxations (respectivement, lignes et flèches pointillées grises) jusqu'au flambage du fil. Il en résulte une courbe de traction virtuelle à une vitesse donnée (ligne pointillée noire) et des courbes virtuelles sans viscosité de charge et de décharges (lignes pointillées grises). Les relaxations ont une durée de 300 secondes soit environ 80% de la relaxation maximale observable.

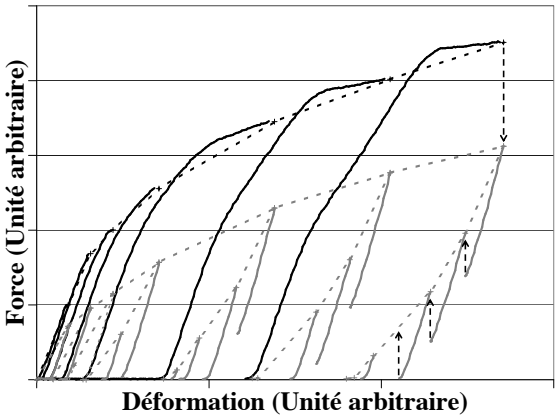


FIG. 2.7 – Essais mécaniques complexes. Des cycles avec un maximum de charge croissant sont effectués, voir le texte pour plus d'informations

Ces essais permettent d'obtenir les différentes énergies en calculant l'aire sous chaque courbe. Ainsi, la viscosité est obtenue grâce à l'aire présente entre la courbe de traction et la courbe sans viscosité. L'élasticité est calculée grâce aux courbes de décharge. La plasticité est obtenue par la différence entre l'énergie totale et la somme des deux autres énergies.

Pour chaque déformation est alors obtenue la valeur en énergie cumulée. Pour obtenir l'énergie induite entre deux déformations chaque valeur d'énergie est soustraite par la valeur de l'énergie cumulée précédente. Enfin, cette valeur est normalisée par la différence entre les déformations encadrant le segment analysé. Ceci permet d'arriver à une valeur d'énergie induite normalisée par la déformation pour chaque segment.

Cette technique mène à une aberration en créant de la plasticité pendant la phase élastique due à l'hystérésis et aux temps de relaxation, alors qu'aucune déformation irréversible n'est observée. Les valeurs de plasticité obtenue pendant la phase élastique sont donc considérées comme étant de l'élasticité et sont déplacées vers les valeurs d'élasticité.

2.4.7 Essais en humidité saturante

Pour effectuer des essais en humidité relative (RH) élevée, un contenant rempli d'eau a été développé avec deux ouvertures latérales pour les mors, permettant d'accueillir l'ensemble de la fibre. Le volume ainsi réduit est laissé un jour jusqu'à saturation (gouttelettes visibles sur les parois). L'humidité relative est alors considérée comme de 100%RH, même si aucune mesure n'a été effectuée.

Des mesures d'absorption et de désorption ont été faites sur le fil industriel et présentées en figure 2.8. Les valeurs extrêmes de 0%RH et 100%RH ont été obtenues respectivement avec une cloche sous vide contenant du Silicagel et un environnement saturé en eau à 21°C. On constate que la vitesse d'absorption peut être évaluée à $1{,}5.10^{-5}s^{-1}$ et la vitesse de désorption à $-3{,}7.10^{-5}s^{-1}$. La vitesse de désorption est donc plus rapide que la vitesse d'absorption. Ces vitesses sont certainement sous évaluées car les fibres étaient stockées dans un bécher ne permettant pas une convection optimale entre les fibres. Pour des raisons expérimentales, les temps d'absorption avant essais ont été limités à une journée. A partir d'un état stable à 50%RH, on peut alors évaluer graphiquement que le regain est supérieur à 75%.

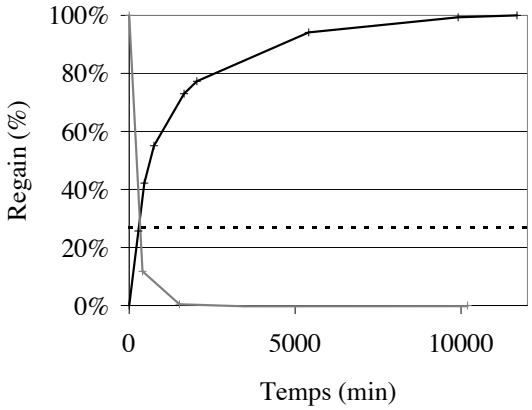


FIG. 2.8 – Essais d'absorption (noir) et de désorption (gris) du fil industriel entre 0%RH et 100%RH, le taux d'humidité normalisé à 50%RH est représenté par des pointillés

Le regain du fil industriel à 50%RH et 100%RH est de, respectivement, 7,4% et 27,7%. Pour le fil de *Bombyx mori* dévidé, ce taux à 50%RH est d'environ 6,4%, et de 5,6% si le fil est décreusé.

2.4.8 Essais en température

Les mesures de mécanique en température ont été obtenues par Dynamic Mechanical Thermal Analysis (DMTA) car les fours à soufflerie adaptables sur le Universal Fibre Tester n'étaient pas appropriés. Il a alors été utilisé un Metravib Viscoanalyseur VA 4000 dont le four, également à soufflerie, pose moins de problèmes. La mesure en force a été obtenue avec une cellule de charge de 20N, trois fils industriels standards ont donc été maintenus en parallèles pour avoir une précision relative suffisante.

Les tests mécaniques complexes décrits précédemment ont été effectués avec des décharges sans relaxations, du fait de la limitation expérimentale. Les modules initiaux ont été calculés sur la première courbe de traction.

2.5 Diffraction aux rayons X

Une étude de diffraction aux rayons X peut comprendre différents types d'équipement aux grands angles ou aux petits angles. On entend par angle, l'angle entre le faisceau de rayons X direct transmis et la raie de diffraction, il est également appelé 2θ. Un schéma explicatif est présenté en figure 2.9.

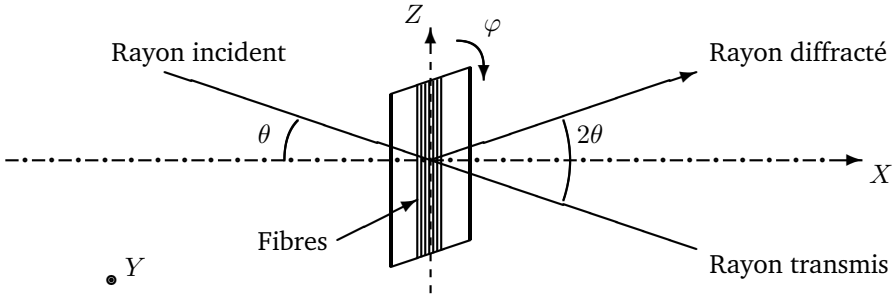


FIG. 2.9 – Schématisation de la diffraction aux rayons X

Les mesures ont été effectuées en transmission par un faisceau de rayon X produit par un générateur Siemens K760, de longueur d'onde Co K_α, c'est-à-dire 1,789.10^{-1}nm, rendu monochromatique par un filtre de fer. Le faisceau d'une puissance de 45kV, à 25mA est rendu ponctuel par un collimateur de 1mm de diamètre. La détection est faite par un compteur linéaire.

Les échantillons testés ont été le fil de *Bombyx mori* dévidé et décreusé, le fil industriel décreusé, le fil de *Bombyx mori* race Nistari décreusé, le fil de *Bombyx mori* race Nistari modifié génétiquement décreusé. La soie d'araignée n'a pu donner de résultats concluant par manque de matière. En effet, la mesure de l'intensité du rayon diffracté, à cette puissance, nécessite un volume de matière de plusieurs centaines de micromètres. Les fibres sont alignées autant que possible manuellement et fixées entre deux cadres cartonnés.

2.5.1 Diffraction aux rayons X sur film

Les mesures de diffraction aux rayons X sur film, également appelé de Debye Scherrer en chambre plane, ont été effectuées avec des films de 125ASA. Les rayons diffractés sont récupérés sur un film photographique pendant un temps de pose de deux heures. Pour obtenir l'information en angle 2θ, il faut donc faire une conversion, voir l'équation 2.1.

$$Angle_{plan}(2\theta) = Arctan(\frac{D}{2.L}).\frac{180}{\pi} \tag{2.1}$$

Où, D est la distance entre les deux tâches du plan étudié symétriques par le centre et L est la distance entre la source et l'échantillon.

Pour ce faire, les négatifs ont été scannés et étudiés par analyse d'image. Durant cette analyse, l'image peut subir une rotation pour s'assurer une symétrie planaire en Z. Alors, une ligne de pixel est analysée pour que les pics présents sur la ligne soient parfaitement symétriques. Une fois la rotation fixée, il faut trouver le centre de la diffraction. Pour cela, plusieurs lignes en Y et en Z ont été utilisées et la position en pixel notée pour des points de même intensité. La moyenne de ces positions donne la position du centre. Ces données permettent de traiter l'information et d'obtenir une cartographie en φ et 2θ des films photographiques.

Ce type de mesure a l'avantage d'être moins restrictive au niveau de la forme de l'échantillon. Ainsi, par exemple, l'échantillon n'a pas à être parfaitement plan, ce qui a permis d'obtenir une réponse de la fibroïne extraite de la glande séchée.

2.5.2 Diffraction aux rayons X par Wide Angle X-ray Scattering

L'autre possibilité est d'utiliser un goniomètre afin d'obtenir l'information relative à l'intensité des rayons diffractés. Cet instrument se déplace alors en angle 2θ par pas de 0,032°, avec une durée de une seconde par pas, depuis 15° jusqu'à 75° en mesurant l'intensité diffractée. Pour obtenir les informations en fonction de l'angle φ, il a alors été développé au sein du laboratoire un porte échantillon permettant une rotation des fibres avec précision dans le plan YZ, selon l'angle φ.

L'utilisation d'un goniomètre limite le nombre de données car ces expérimentations nécessitent du temps, à faire et à interpréter, mais elles permettent une plus grande précision de mesure comparé aux films.

Le goniomètre, un Brucker D500, fournit les données grâce au logiciel Diffrac. Ces données sont traitées par le logiciel Eva afin d'extraire le bruit de fond, et linéariser la ligne de base. Ainsi, un facteur de transmission a été mesuré en comparant une intensité de comptage avec et sans échantillon, voir tableau 2.2. La formule 2.2 a alors été utilisée, l'épaisseur de l'échantillon étant constante ainsi que le temps de comptage.

Echantillon	Epaisseur (mm)	Facteur de transmission
Bombyx mori, dévidé	0,380	1,295
Bombyx mori, décreusé	0,253	1,173
Fil industriel, décreusé	0,368	1,219
Race Nistari, décreusé	0,416	1,260
Race Nistari génétiquement modifiée, décreusé	0,320	1,152

TAB. 2.2 – Mesures des facteurs de transmission

$$Signal_{traite} = Signal_{initial} - Facteur_{transmission}.Signal_{blanc} \tag{2.2}$$

Le signal initial est celui obtenu par le goniomètre et le signal blanc est celui-ci obtenu sans échantillon, il représente le bruit notamment produit par la diffraction de l'air. Le signal traité est analysé en séparant les pics en utilisant le logiciel Topas. Le processus de séparation est décrit dans le chapitre 4.

2.5.3 Diffraction aux rayons X par Small Angle X-ray Scattering

La diffraction des rayons X aux petits angles (SAXS) permet d'atteindre de plus petits angles 2θ et donc de plus grandes longueurs de cohérences. Cependant, il n'a pas été possible d'obtenir de résultats satisfaisants grâce à cette méthode. En effet, il a été décrit dans la littérature que le signal de diffraction aux petits angles est très faible et nécessite de longs temps d'exposition. A tel point que le type d'équipement présent au laboratoire n'est pas approprié pour ce type d'expérimentations, il faudrait faire appel à un synchrotron [Yang 97] [Mill 00].

2.6 Spectrométrie RAMAN

La spectroscopie Raman consiste en l'irradiation d'un matériau par une lumière cohérente monochromatique (LASER), les longueurs d'onde allant classiquement de l'UltraViolet à l'InfraRouge, menant à l'émission de photons de longueur d'onde différente, voir figure 2.10. Les photons diffusés à la même longueur d'onde forment une raie Rayleigh. L'effet Raman mène à un changement de longueur d'onde de certains photons positivement ou négativement, les raies Stokes et anti-Stokes, ce changement de longueur d'onde est dépendant de la fonction chimique excitée. Ainsi, les longueurs d'ondes Stokes observées sont dépendantes de la nature et de l'arrangement des liaisons chimiques constituant la matière.

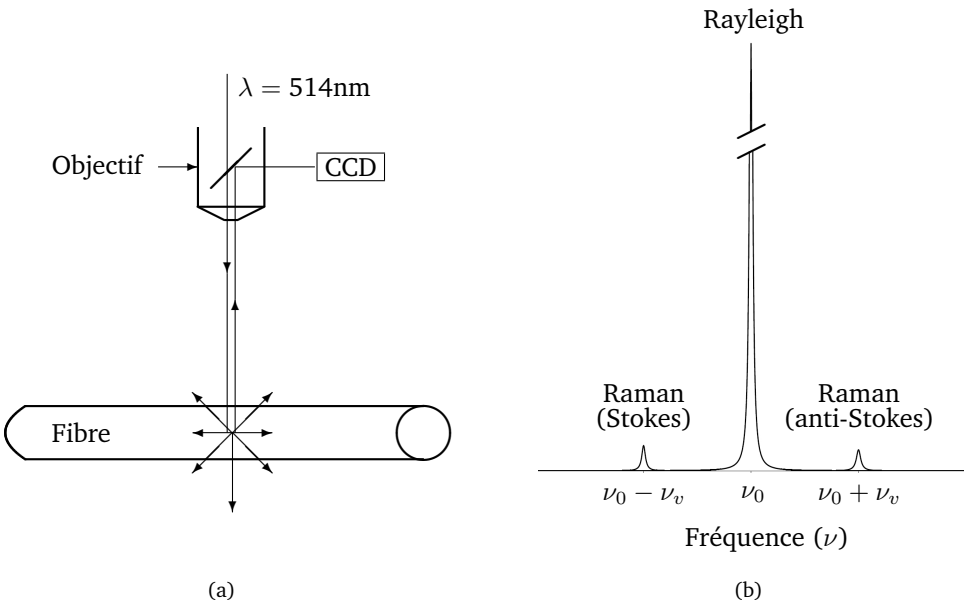


FIG. 2.10 – Schématisation de la spectrométrie Raman

Le spectromètre utilisé est un Horiba Jobin Yvon HR 800 avec un objectif x100 pour les mesures en statique et x50 pour les mesures *in situ*. L'acquisition est faite par le logiciel Labspec 5. Sa résolution est de 0,5cm^{-1} à un réseau de 1800 traits par millimètre. La longueur d'onde utilisée est 514nm à une puissance de 3mW. Les temps d'exposition sont de 150 secondes pour les essais statiques et 600 secondes pour les essais *in situ*, les réseaux utilisés étant respectivement 600 et 1800 traits par millimètre.

La technologie LASER est sensible aux variations de température notamment, la salle expérimentale est donc maintenue à une température contrôlée de 19°C. On peut tout de même observer une dérive relativement importante du spectromètre, parfois jusqu'à 1cm^{-1} par jour. Pour s'affranchir de ceci, une référence interne est positionnée, une lampe de néon. Le pic utilisé est centré en 920cm^{-1}.

Les méthodes de chimiométrie spectrales consistent en une normalisation par centrage et réduction des signaux en considérant cette première variation comme une variation d'intensité. Cependant, il reste un bruit de fond causé par les résidus de fluorescence souvent induits par la technique de spectrométrie Raman et une réponse du matériau globalement gaussienne sous les sections de réponse aux hautes et basses énergies. Pour soustraire cette information, il a été choisi de segmenter le spectre au niveau de nombres d'ondes où il n'était pas subjectivement présent de pics informatifs : 470 ; 800 ; 1140 ; 1500 ; 1760 ; 2660 ; 3140 et 3720 cm^{-1}. Puis, le bruit est soustrait en linéarisant celui-ci entre chaque points de la segmentation. On obtient une linéarisation de la ligne de base. Le spectre est alors analysé indépendamment pour chaque segment.

2.7 Modèle numérique

Le modèle numérique est basé sur des travaux internes relatifs à la modélisation des nano-mécanismes des polymères semi-cristallins, pour plus d'informations, se reporter à la thèse de Fabrice Détrez [Detr 08]. Il a été simplifié est adapté au matériau soie. Au final, il s'assimile au modèle analogique présenté en figure 2.11.

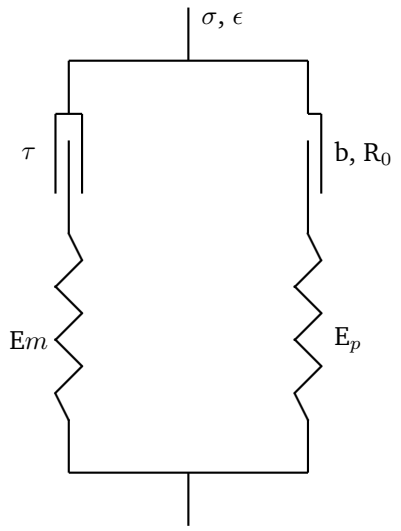


FIG. 2.11 – Représentation schématique du modèle analogique appliqué pour la soie

Il comprend donc cinq paramètres. Il est basé sur un système en parallèle avec une branche utilisant un modèle visco-élastique de Maxwell et une branche représentant de l'élasto-plasticité par un patin et un ressort en série.

- Le piston représente la viscosité avec un temps caractéristique noté τ.
- Le pantin modélise une plasticité linéaire avec un seuil de plasticité noté R_0 et une pente de plasticité notée b.
- Les ressorts représentent les composantes élastiques, leur module est noté respectivement E_m et E_p pour la branche visco-élastique et élasto-plastique.

Le modèle est appliqué sur un cube unitaire en traction uniaxiale en utilisant le logiciel Zebulon, développé à Mines Paristech. Tous les calculs ont été effectués en contrôlant en déformation.

Chapitre 3

Caractérisation mécanique

Sommaire

3.1 Caractérisation morphologique **57**
3.1.1 Observations du fil de ver à soie 57
3.1.2 Mesure de la section 62
3.1.3 Variabilité longitudinale 66
3.1.4 Fractographie 67
3.2 Caractérisation mécanique **68**
3.2.1 Fil de soie de *Bombyx mori* 68
3.2.2 Fil de soie d'araignée 72
3.2.3 Fil de soie modifiée génétiquement 73
3.2.4 Fil industriel 75
3.2.5 Fil industriel décreusé 79
3.2.6 Traction *in situ* en observation microscopique 82
3.2.7 Test mécanique complexe 83
3.2.8 Etude succincte en fatigue 84
3.3 Discussion **85**

La première partie de ce manuscrit développe la description du matériau à l'échelle macroscopique. Pour ce faire, une caractérisation morphologique a été effectuée en utilisant principalement les outils microscopiques. Ainsi, chaque matériau a été décrit pour obtenir des mesures caractéristiques indispensables pour l'étude en mécanique. De plus, une description de la morphologie et des défauts observables a été faite.

Ensuite, la description mécanique s'est basée sur un ensemble d'expériences permis grâce à l'Universal Fibre Tester qui autorise un contrôle précis de la charge et de l'allongement à tout instant. Des essais de traction monotone à différentes vitesses, des relaxations, du fluage ou de la fatigue sont autant de méthodes possibles. Elles permettent de caractériser le comportement mécanique précisément. Ce qui permet de comparer les différentes soies utilisées et approfondir la compréhension des mécanismes.

3.1 La caractérisation morphologique des soies utilisées

La caractérisation morphologique est une première étape dans la caractérisation d'un matériau. Elle permet de décrire celui-ci, de mesurer des paramètres indispensables pour la caractérisation mécanique et d'évaluer succinctement certains facteurs tels que la variabilité.

3.1.1 Observations du fil de ver à soie

Le fil de soie naturel

Le fil de soie est extrait de cocons filés par le ver. Les cocons sont constitués d'un fil continu de plus d'un kilomètre, ils sont filés depuis l'extérieur vers l'intérieur, voir figure 3.1. Les fils sont entremêlés, ce qui témoigne partiellement de la méthode filage. En effet, le ver procède au filage en effectuant un mouvement 'en huit' avec sa tête. Cette observation peut être extrapolée en schématisant le filage par une alternance de phases où le ver prend soin de fixer son fil sur le cocon déjà en partie filé, et de phases d'étirage où le ver file tout en étirant son fil fraichement filé jusqu'au point de fixation suivant. On peut donc imaginer une inhomogénéité longitudinale du fil avec des segments produits presqu'en extrusion et d'autres produits en étirage. De plus, des défauts doivent apparaître au niveau des zones de fixation.

Ce fil est composé de deux brins de fibroïne entourés d'une gaine de séricines. La section des brins n'est pas circulaire, ce qui pose problème quant à la mesure de la section, voir figure 3.2. La section peut en effet s'assimiler à une sorte de triangle que l'on peut représenter avec un grand coté (D1 et D2 sur la figure) et un petit coté (d1 et d2 sur la figure). Les deux brins sortent côte-à-côte de la filière par leur petit coté. On retrouve bien, par cette forme de section, la morphologie de la filière avec deux glandes symétriques qui sont écrasées dans leur partie antérieure par deux plaques de chitine disposées de part et d'autre du canal excréteur dans l'axe vertical.

On observe également la présence de grès qui enrobe les deux brins, voir figure 3.2. Celui-ci sert de colle pour fixer les brins sur le cocon en construction. Ceci pose donc des difficultés quant à l'extraction du fil et plus encore des brins pour les expérimentations. Il faut en effet limiter au maximum de pré-contraindre les fils pendant l'extraction pour éviter au maximum un quelconque historique différent pour chaque échantillon risquant d'accroître d'autant la variabilité. Il y a en effet deux moyens d'extraire les fils, par voie mécanique (manuelle) et chimique. La voie chimique utilise l'eau ou d'autres solvants du grès, additionnés ou non d'agents dénaturants tels que le savon, certaines enzymes, molécules ou ions, afin de dévider voire décreuser la soie par mouillage voire solubilisation du grès. Cette méthode peut avoir un impact sur les brins de fibroïne par le traitement chimique et parfois thermique appliqué. Cependant, elle a été préférée à la méthode manuelle pour sa meilleure reproductibilité, chaque échantillon subissant le même historique de préparation.

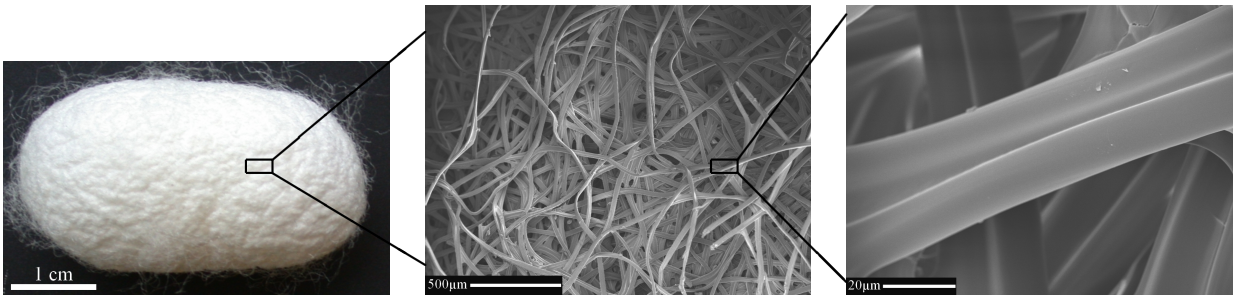
Le fil industriel

Le fil industriel est constitué d'un certain nombre de fils issus de différents cocons dévidés en même temps. Le principal facteur contrôlé par l'industrie à ce niveau-là est le diamètre moyen. La flotte (fil continue de soie grège enroulé sans support) fournie par notre fournisseur industriel est calibrée à 20-22 deniers, ce qui signifie que pour un fil de 9000 mètres de long, la masse doit être comprise entre 20g et 22g, voir figure 3.3(a). Pour cela, des fils peuvent être ajoutés ou retirés pour maintenir le diamètre moyen. Ceci montre que la section des fils est fortement variable entre les cocons et que cette section évolue le long du cocon. On peut donc voir sur la figure 3.4(a) que l'assemblage en fil industriel peut être constitué de 6, 7, 8 ou 9 fils de soie natifs. Le grès mouillé pendant le dévidage dans un bain d'eau chaude permet de maintenir la cohésion du fil après séchage.

Le fil de soie modifié génétiquement et le fil de soie d'araignée

Cette étude a également abordé la soie du ver *Bombyx mori*, race Nistari polyvoltin, génétiquement modifiée. Cependant, il n'y a pas d'observations morphologiques particulières à noter mis à part la couleur jaune et la masse supérieure des cocons génétiquement modifiés (525$\pm$30mg pour les témoins et 707$\pm$34mg pour les organismes génétiquement modifiés), voir figure 3.5.

Enfin, des fils de soie de *Nephila Madagascariensis* ont été observés en début d'étude. On peut observer sur la figure 3.6 que l'échelle du fil de soie d'araignée est plus petite puisqu'elle se situe sous les 10μm. De plus, ce type de fibres est beaucoup plus homogène et circulaire au niveau de la section. Les fils sont lisses et on n'observe pas de gaine entourant les fibres. Deux lots de fibres étaient présents dans notre échantillonnage. Des fibres de petit diamètre transparentes, et des fibres de plus gros diamètre jaunes translucides.



(a) (b) (c)

FIG. 3.1 – Observation d'un cocon de ver à soie en vue optique (a) et microscopique (b et c)

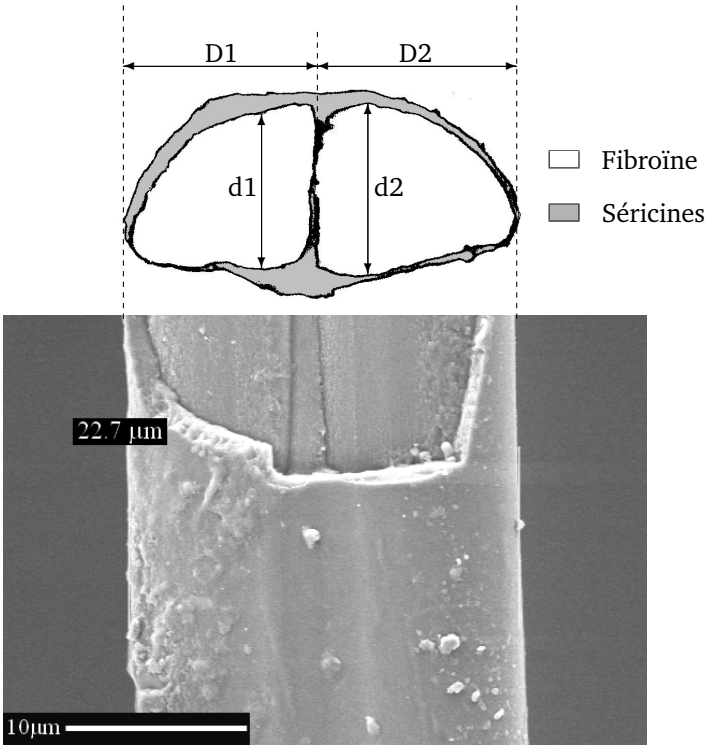
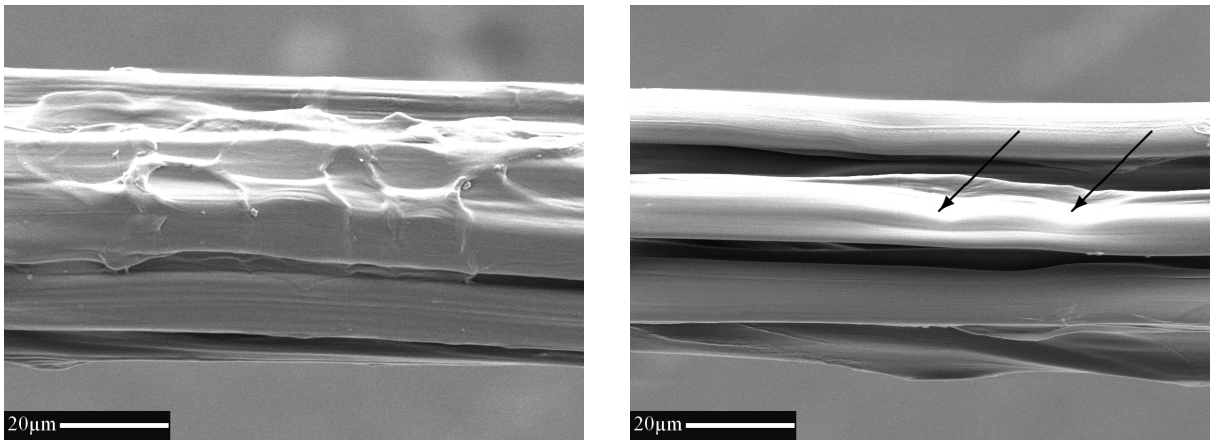
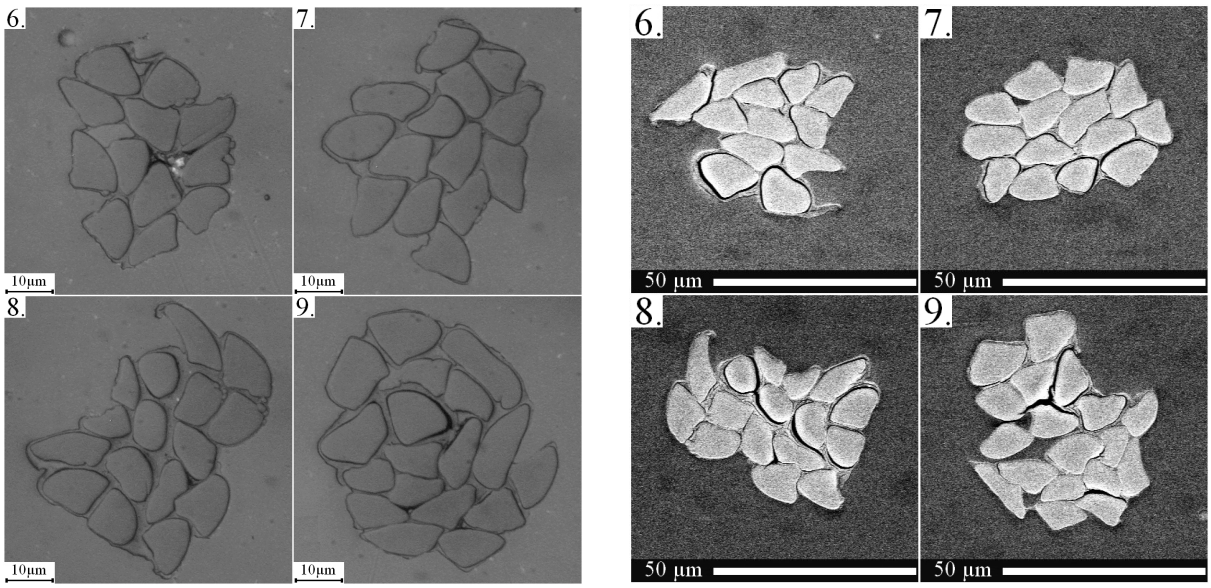


FIG. 3.2 – Observation d'un fil de soie, un éclat de grès manquant permet de voir les deux brins de fibroïne à nu sur la partie supérieure de l'image



(a) (b)

FIG. 3.3 – Observation longitudinale en microscopie électronique de fil industriel témoin (a) et décreusé (b), flèches : défauts



(a) (b)

FIG. 3.4 – Observation de sections de fils industriels en microscopie optique (a) et électronique (b) pour des fils standards de 6 à 9 fils extraits de cocons différents

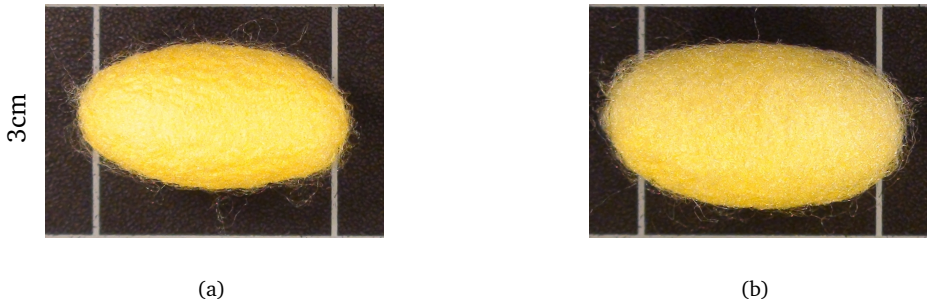


FIG. 3.5 – Observation d'un cocon de ver à soie de race Nistari, témoin (a) et génétiquement modifié (b)

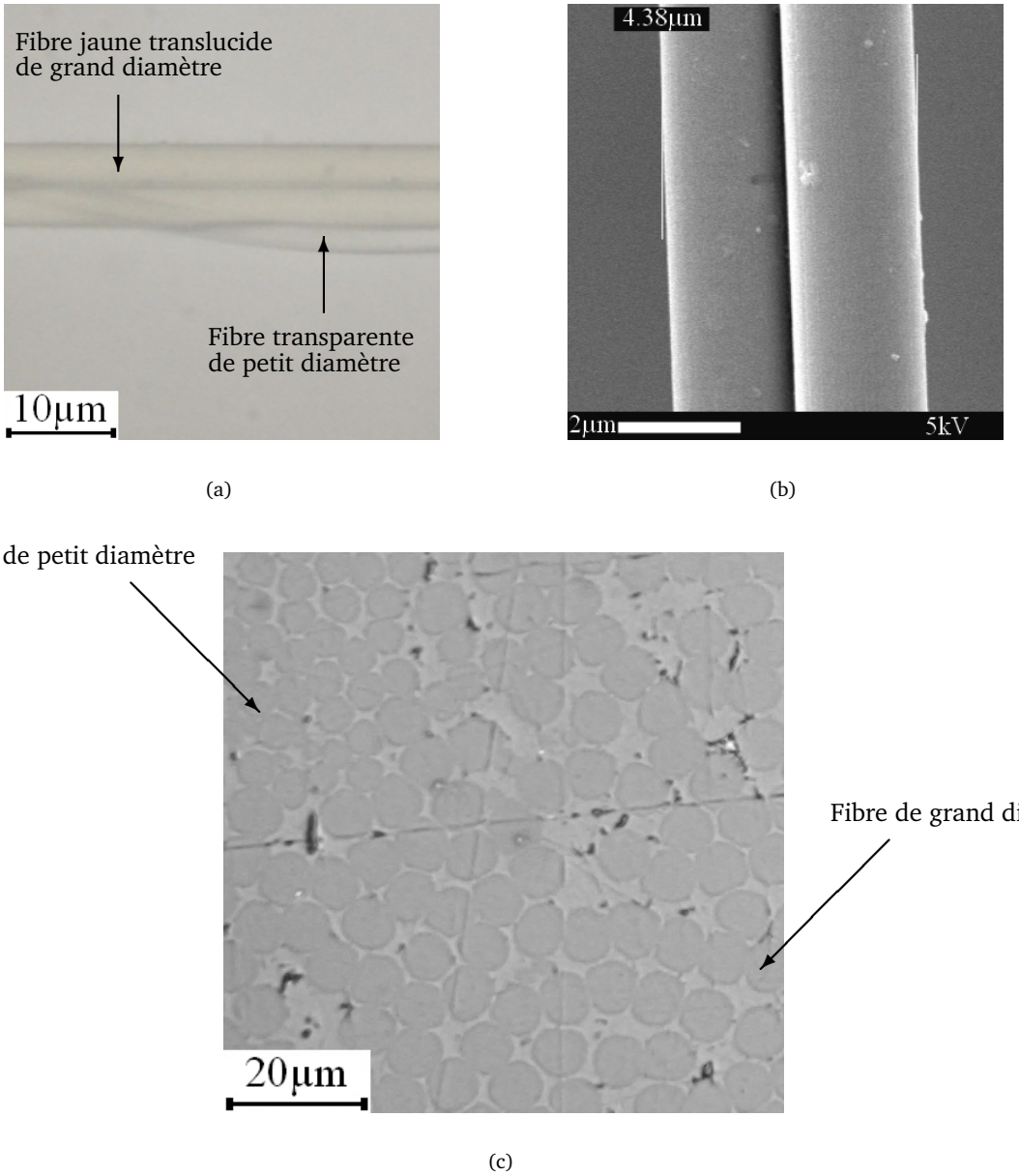


FIG. 3.6 – Observation longitudinale de fil de soie d'araignée en microscopie optique (a) et électronique (b) et observation de leur section en microscopie optique (c)

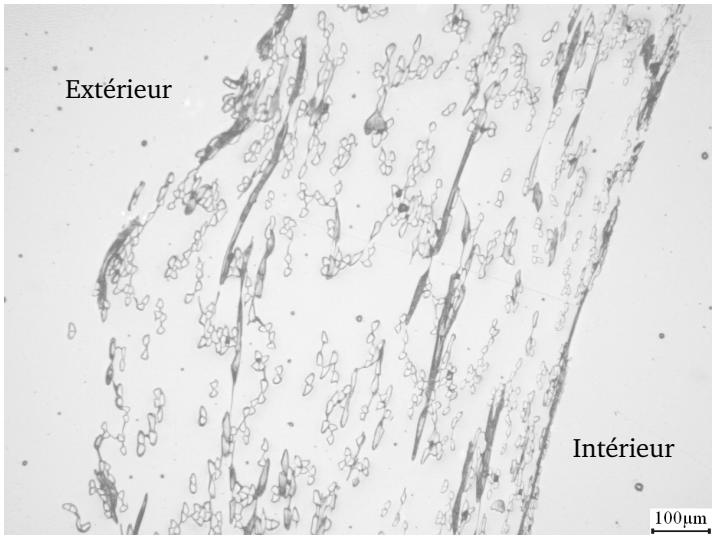
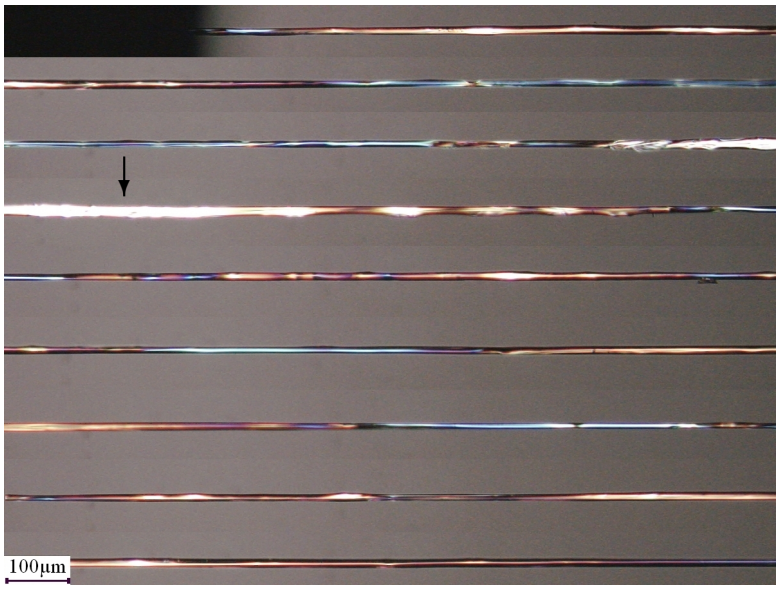
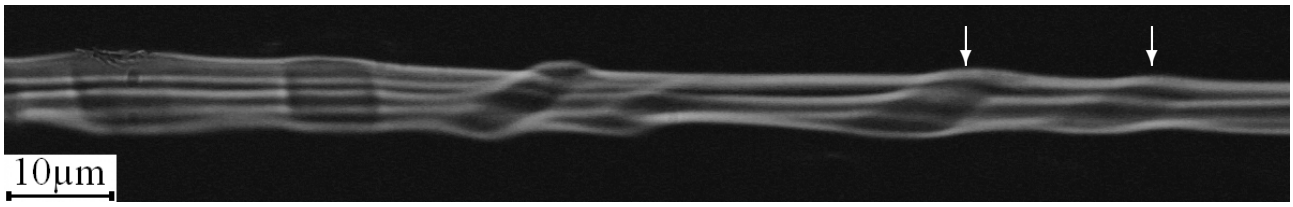


FIG. 3.7 – Observation microscopique d'une section de cocon



(a)



(b)

FIG. 3.8 – Observation d'une fibre de soie en lumière polarisée, les différentes sections sont continues, de haut en bas sur la photographie, cela représente de gauche à droite dans la réalité (a), agrandissement d'une section avec défauts (b), flèches : défauts

3.1.2 Mesure de la section

3.1.2.1 Evaluation de la section pour la mesure de la contrainte

La mesure de la section est primordiale pour l'étude en mécanique. En effet, elle permet de passer de la mesure en force à une donnée en contrainte, normalisation indispensable pour avoir une idée des propriétés à l'échelle du matériau et non uniquement de l'échantillon. Cependant, la section de la soie n'est absolument pas circulaire comme la plupart des polymères synthétiques, sa mesure est donc complexe et sujette à discussion. L'industrie a répondu à cette problématique en définissant le titre du fil, c'est-à-dire en prenant en compte la section moyenne et la masse volumique, exprimé en deniers, unité préférée dans l'industrie de la soie au tex [Duna 95]. Après l'observation de la non circularité de la section de la fibre de soie [Prez 98], il a été proposé différentes méthodes afin de normaliser par la section. Dans tout les cas, la section est assimilée à une forme géométrique simple, elle peut être circulaire ou triangulaire [Fedi 03] [Prez 00a]. Il s'agit ensuite de mesurer la largeur moyenne pour calculer la surface du disque théorique pour la méthode circulaire, ou calculer la largeur minimale et maximale par rotation de l'échantillon pour la méthode triangulaire. Ces méthodes ne se sont pas montrées efficaces quant à la réduction de la variabilité grâce à la normalisation.

Nous en déduisons qu'il n'est pas intéressant pour l'évaluation des résultats de normaliser les propriétés mécaniques pour chaque échantillon. Nous proposons donc dans cette étude de calculer une valeur moyenne juste de la section par le biais d'une méthode destructive. Cette méthode consiste en l'enrobage de fibres dans une résine époxy. Ces fibres sont maintenues alignées par l'usage d'un tube métallique dans lequel les fibres sont insérées. Ensuite, une étape de polissage permet d'observer directement la section perpendiculairement à l'axe de la fibre. Enfin, une observation microscopique suivi d'une analyse d'image permet d'évaluer la section. Ceci impose de garder les valeurs en force pour chaque échantillon mais permet d'obtenir une valeur moyenne en contrainte des propriétés la plus juste possible par la formule 3.1.

$$\bar{\sigma} = \bar{F}/\bar{S} \tag{3.1}$$

Où '¯' signifie moyenne, et la force ainsi que la section on été calculées sur deux lots de fibres indépendants

Cette méthode ne permet cependant pas de séparer la section relative à la fibroïne et la section relative au grès, ce qui est bien dommageable. Mais, la résolution et le contraste ne permettent pas d'obtenir des résultats suffisamment significatifs. Seule la section du fil standard non décreusé a donc été évaluée pour le cas industriel.

3.1.2.2 Résultats obtenus

Les résultats obtenus vont permettre de calculer ultérieurement les valeurs en contrainte grâce aux valeurs moyennes en force, ils sont présentés dans le tableau 3.1.

	Section (μm^2)
Bombyx mori	260±39
Race Nistari	179±34
Race Nistari modifiée	302±45

(a)

	Section (μm^2)
Standard industriel	1590±153
Standard de 7 fils	1432±93
Fil de cocon moyen	201±8

(b)

TAB. 3.1 – Valeurs de section des différents types de soie, à partir d'un cocon (a) ou du fil industriel (b)

Cas des organismes génétiquement modifiés

La transformation génétique a provoqué non seulement une augmentation de la masse des cocons de 135% mais également de la section du brin de 169%, les 2 étant liés. Une des explications pourrait être une hydrophilie supérieure de la soie modifiée par voie génétique apportée par la spidroïne ou plus certainement par la GFP (Green Fluorescent Protein) qui est hydrophile. Cependant, une mesure de poids à 50%RH et à l'état sec montre que le témoin comporte 4,0% d'humidité à 50%RH alors que le cocon issu des organismes génétiquement modifiés en contient 3,9%, ce qui ne semble pas significatif, même si le nombre de mesure n'est pas statistique. Il semblerait donc que d'autres facteurs sont à prendre en compte pour expliquer cette différence.

Cas du fil industriel

Le fil industriel est donc composé de 6 à 9 fils extraits de cocons différents (soit de 12 à 18 brins), voir la figure 3.9. La section moyenne pour le fil industriel standard est de 1590±153μm^2 ce qui représente un diamètre de 45μm si la section était un disque. Les fils industriels à 7 fils de cocon représentent la majorité des cas puisqu'ils représentent 60% de l'ensemble. Leur section moyenne est de 1432±93μm^2. On peut également constater que le nombre de fils de cocon présents est corrélé avec la section moyenne de ce type de fil industriel à 6, 7, 8 ou 9 fils. Cependant, il n'est pas possible de connaître à l'avance le nombre de fils de cocons utilisés pour le fil industriel pour discrétiser les résultats apportés par la mécanique, dans le cas du standard tout du moins. Il sera montré que ceci pourrait être possible *a posteriori* pour le cas du standard décreusé. Enfin, la section moyenne des fils de cocons présents dans le standard est de 201±8μm^2, ce qui est significativement inférieur à la valeur obtenue pour le cocon de *Bombyx mori*. Ceci peut s'expliquer par l'origine différente des élevages voire des races de ver à soie utilisées.

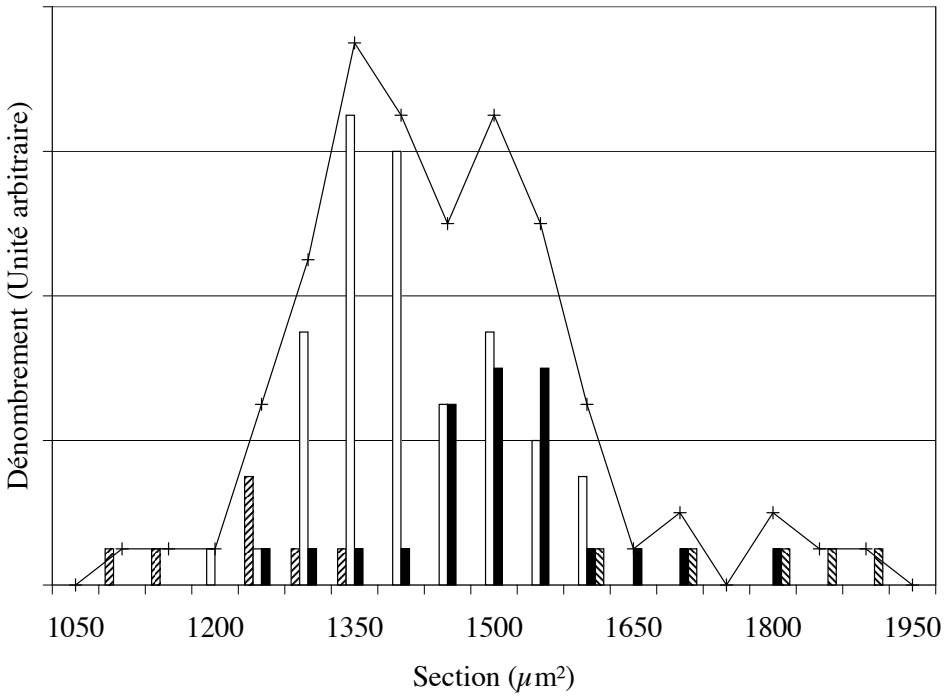


FIG. 3.9 – Dénombrement des fils industriels en fonction de leur section, les fils industriels à 6, 7, 8, et 9 fils extraits de cocon sont respectivement représentés par les barres à diagonales montantes, blanches, noires et à diagonales descendantes, l'ensemble des fibres est représenté par la ligne noire

Sur le fil d'araignée

On peut observer sur la figure 3.6(c) qu'il existe deux lots de fibres de diamètre distinct. Pour calculer leur section, il n'a pas été possible d'utiliser l'analyse d'image car le contraste est insuffisant entre les fibres et la résine d'enrobage. Par contre, les sections pouvant s'assimiler à des disques, par mesure des diamètres, il peut être obtenu les sections. On observe qu'il existe alors deux lots de sections significativement différentes : 43,6±0,1μm^2 et 21,6± 0,1μm^2.

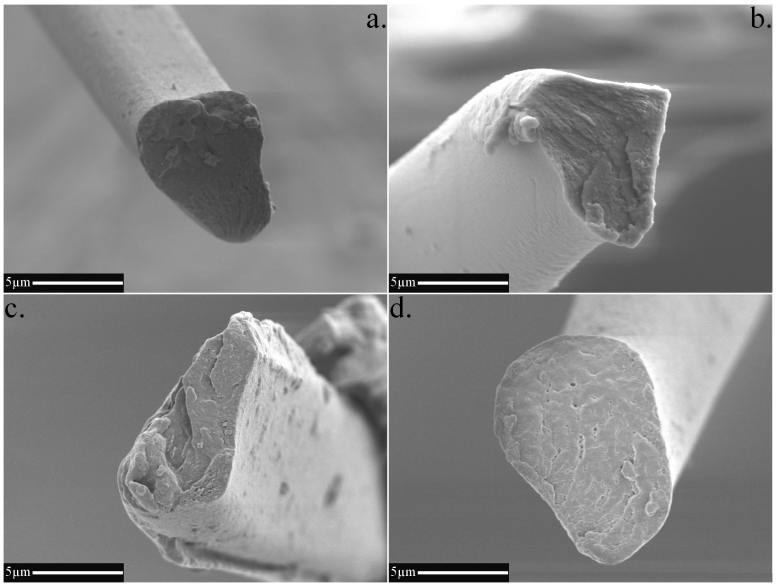
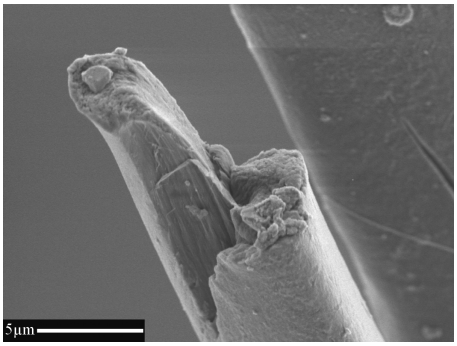
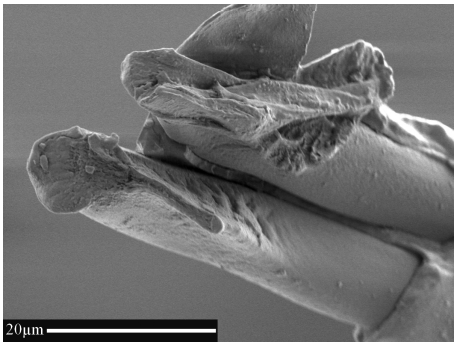


FIG. 3.10 – Observation microscopique de faciès de rupture de fibres de soie de *Bombyx mori*, cas similaires aux fibres synthétiques semi-cristallines (a et b), cas complexe (c), cas du type rupture fragile (d)

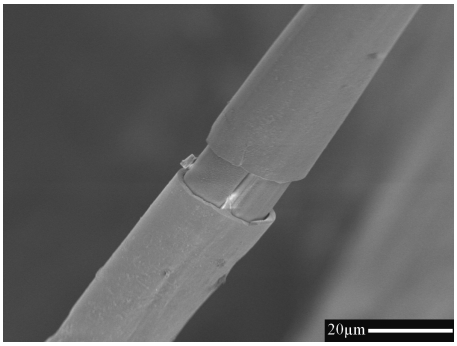


(a)

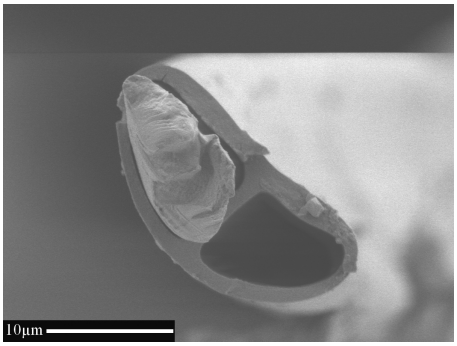


(b)

FIG. 3.11 – Observation de faciès de rupture engendrés par des défauts visibles, interne (a) et externe (b) à la fibre



(a)



(b)

FIG. 3.12 – Observation de rupture de la gaine de séricines pendant la traction (a) et après rupture (b)

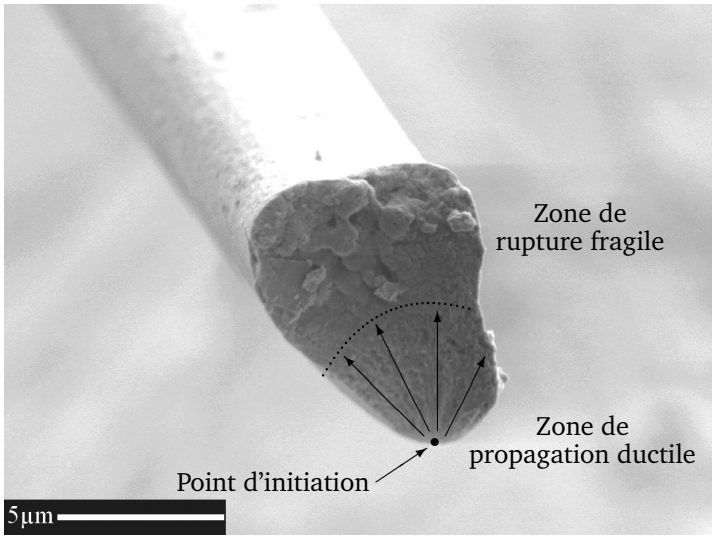
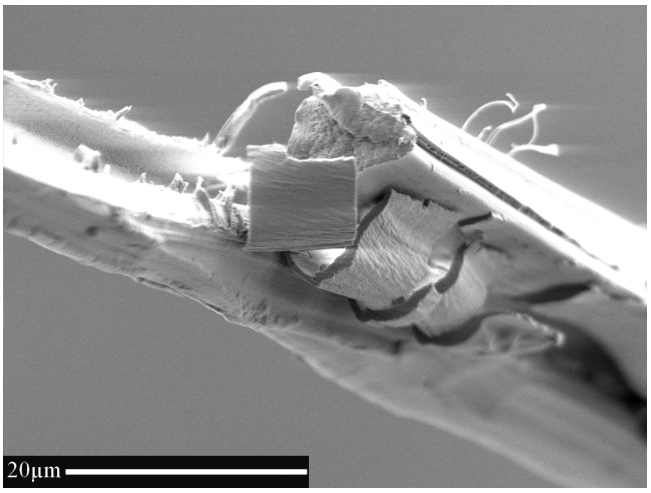
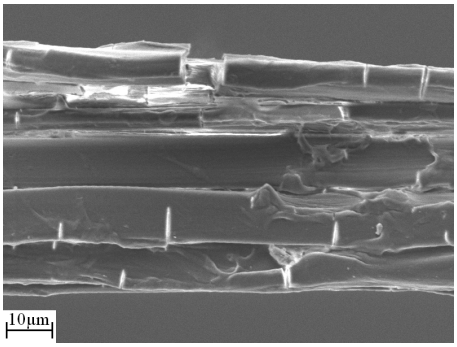


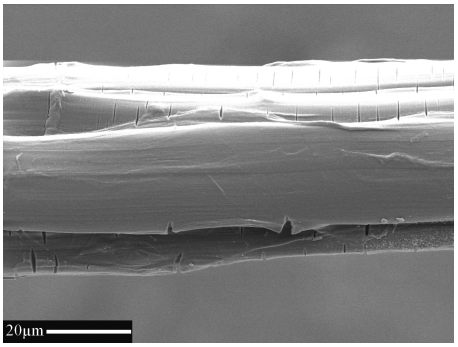
FIG. 3.13 – Schématisation d'une rupture



(a)



(b)



(c)

FIG. 3.14 – Observation de faciès de rupture de fil industriel (a), de l'impact d'une traction *in situ* (b) et de cycles (c) sur la gaine de séricines

3.1.3 Variabilité longitudinale

3.1.3.1 Pour le fil de soie naturel

Evolution de la morphologie le long du cocon

Il a donc été observé que les fibres de soie (brins) n'étaient pas cylindriques, voir figure 3.7. Il est possible d'évaluer cette non circularité par le calcul du rapport du petit côté (d) sur le grand côté (D), noté indice de circularité (I_{circ}). La valeur maximale 1 se rapprochant d'une forme circulaire et la valeur minimale 0 s'en éloignant. Au sein du cocon, cet indice diminue de l'extérieur vers l'intérieur, voir tableau 3.2.

sens du fil →

	Extérieur du cocon	Intérieur du cocon
D (μm)	15,0±2,1	14,4±3,2
d (μm)	10,5±1,5	7,1±1,5
I_{circ} (%)	0,7	0,5

TAB. 3.2 – Evolution de la morphologie du fil au sein du cocon

On observe que le grand côté évolue peu, mais que c'est principalement le petit côté qui diminue. Ceci s'explique par la méthode de filage et la constitution du ver. Le grand côté est en effet parallèle au plan frontal, or la largeur des glandes dans ce plan est constante. Par contre, dans le plan médian, les plaques de chitine peuvent se rapprocher provoquant une diminution du petit côté. La diminution de la section peut s'expliquer par la diminution en continu de la réserve de polymère produite, dans sa totalité, avant le début du filage.

Il est donc observé une diminution de la section depuis le début du fil (extérieur du cocon) vers la fin du fil (intérieur du cocon) ce qui confirme les résultats présentés dans le littérature, mais cette tendance n'est pas vraiment significative d'un point de vue statistique.

La présence de défauts

Les variations et défauts sont très importants pour la caractérisation mécanique d'un matériau. Des variations de structure ou de microstructure peuvent modifier le comportement, et la présence de défauts initie la rupture. On constate tout d'abord une variabilité importante de la morphologie puisque le rapport de l'écart type sur la moyenne, dans le cas des mesures de section est de 15% [Zhao 07a]. Ceci s'explique par des variabilités individuelles entre cocons et des variabilités locales le long de la fibre. En effet, on constate de nombreuses variations le long de la fibre, de forme de la section notamment, comme nous pouvons le constater sur les sections du fil industriel qui représentent une coupe prise aléatoirement le long de chaque fil de cocon, voir figure 3.4. De plus, il semble que la microstructure soit également modifiée, notamment l'orientation interne, puisque la lumière polarisée est modifiée, voir figure 3.8(a). Une alternance des zones colorées est observable, ce qui se justifie par une rotation locale du brin ou des contraintes locales apportées par l'alignement de la fibre, initialement ondulée. Par contre, les zones blanches ne peuvent être provoquées que par une modification microstructurale importante. Il semble qu'il y ait une longueur caractéristique séparant ces zones de l'ordre de 6mm, période du 'huit' caractéristique de la méthode de filage. Mais, ceci n'a pu être prouvé statistiquement puisque parfois ces zones n'apparaissent que très légèrement pour certains brins. La figure 3.8(b) montre que ces zones sont caractérisées par des déformations plastiques de la fibre de soie. Cet aspect, avec deux motifs similaires proches, s'apparente à l'écrasement dû à un fil de soie posé sur une matière pas encore complètement sèche. Il semblerait que la cause de ces imperfections soit donc la méthode de filage où le ver dépose régulièrement son fil pour le fixer sur le cocon en cours de production induisant des déformations irréversibles des fibres précédemment déposées et pas encore parfaitement solidifiées. De même, cette soie fraichement déposée est certainement déformée par la pression de fixation. Or, cette déformation doit résulter en des contraintes locales menant à une microstructure et un comportement mécanique modifiées. De plus, entre chacune de ces zones, la fibre semble bien régulière et orientée ce qui validerait un étirement du fil lors du filage.

3.1.3.2 Pour le fil industriel

Le fil industriel subit la même variabilité que le fil de cocon de soie à l'échelle du brin. En plus, il faut y ajouter la variation due au nombre de fils de cocon utilisés qui peut varier le long du fil industriel pour maintenir la section moyenne. Enfin, il s'ajoute des problèmes de cohésion qui peuvent mener à la présence de porosités à l'intérieur du fil industriel, et à des formes de sections complexes, voir le fil à 18 brins de la figure 3.4(b).

3.1.4 Fractographie

Les faciès de rupture peuvent apporter des informations sur le comportement mécanique du polymère. On peut constater tout abord qu'il existe une variété de faciès de rupture pour le brin de fibroïne, voir figure 3.10. La rupture peut être relativement conventionnelle d'un polymère semi-cristallin tels que certains polymères synthétiques (Polyamide ou Poly(éthylène) téréphtalate). Elle peut également être plus complexe voire plus caractéristique d'un matériau fragile. On observe donc la variabilité de microstructure et la présence de défauts le long de la fibre par la variété des faciès. Cette variété peut être due à des défauts internes comme sur la photographie 3.11(a) ou externe par le procédé de filage comme vu précédemment, voir la photographie 3.11(b).

Le faciès de rupture indique également la manière dont s'est produite la rupture, comme schématisé sur la figure 3.13. On constate que la rupture débute au niveau d'un point d'initiation, généralement induit par la présence d'un défaut, puis celle-ci se propage ductilement jusqu'à un certain point où la charge ne peut être supportée par la section résiduelle et se produit une rupture fragile.

Mais la fibroïne n'est pas le seul polymère à avoir de l'importance dans la compréhension du comportement de la soie, du moins non décreusée. Le grès a longtemps été négligé mais est resté finalement peu étudié. Sur la figure 3.12, le grès présente un faciès de rupture plutôt de type fragile, bien net. De plus, on peut observer que l'interaction entre les brins et la gaine de séricines est relativement faible. La rupture du grès précède celle de la fibroïne qui va alors s'extraire de la gaine tel un fil que l'on dénude. Cette même observation peut être faite sur le fil industriel présenté en figure 3.14(a) où l'on constate que le grès s'écaille en morceau rectilignes. La rupture du grès peut s'observer sur des fils sollicités en relaxation comme sur des fils pré-cyclés 3.14.

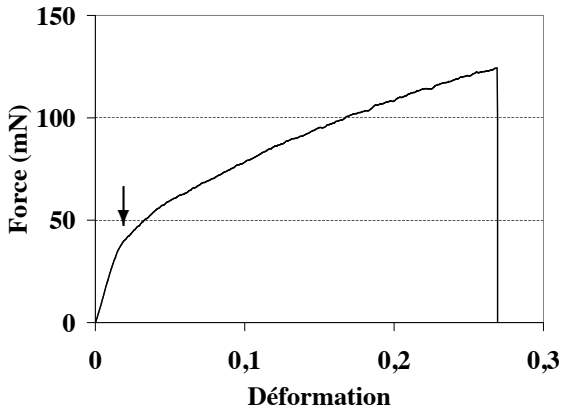
3.2 La caractérisation mécanique des soies utilisées

La caractérisation mécanique a été effectuée pour les différents types de soie, elle donne ainsi des valeurs caractéristiques pour chaque matériau. Elle permet également de mettre en évidence l'importance de l'ensemble des composants et l'effet composite visible pour le fil industriel. Elle prouve enfin notre capacité à modifier les propriétés mécaniques grâce à la biotechnologie, ce qui est une voie extrêmement prometteuse pour l'avenir.

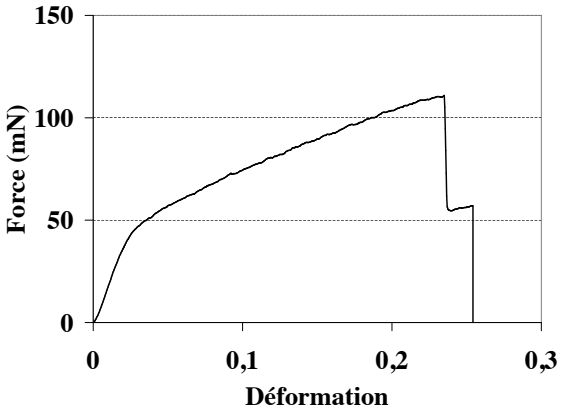
3.2.1 La caractérisation mécanique du fil de soie de *Bombyx mori*

Etude d'une traction simple

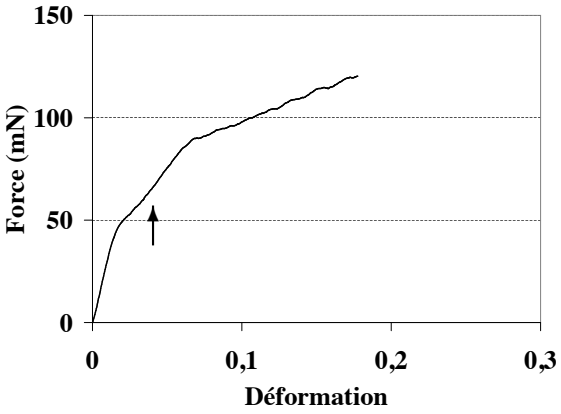
Des essais mécaniques ont été effectués sur des cocons fournis par l'UNS. Ces essais ont été effectués sur les cocons dévidés, c'est à dire déroulés dans de l'eau distillée portée à ébullition pour en extraire le fil. Pour chaque cocon, différentes portions ont été analysées, premièrement pour étudier leur morphologie décrite précédemment, ensuite pour étudier leur comportement mécanique. On peut observer qu'il existe une allure typique de courbe de traction de la fibre de *Bombyx mori*. Celle-ci est présentée en figure 3.15(a). On constate que la courbe peut être divisée en deux régimes. La limite d'élasticité, séparant les 2 régimes, peut être approximativement visualisée sur courbe par la position de la flèche sur la figure.



(a)



(b)



(c)

FIG. 3.15 – Courbe de traction d'une fibre de soie de *Bombyx mori* avec rupture simultanée, flèche : limite d'élasticité (a) ou consécutive des brins (b) et d'allure atypique, flèche : zone de raidissement (c)

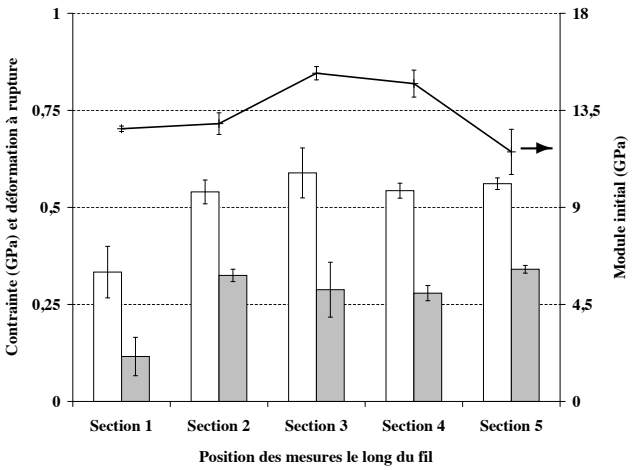
Dans la majorité des cas, les deux brins rompent en même temps, c'est-à-dire que la rupture d'un des deux brins entraine la rupture du deuxième. Parfois, ce mécanisme de rupture ne se produit pas et l'on peut observer une rupture successive des deux brins, voir figure 3.15(b). On voit alors que les capacités à rupture des brins peuvent être différentes selon la présence de défaut. Cependant, le comportement est similaire pour les deux brins puisque la valeur en force diminue de moitié systématiquement à la rupture du premier brin. Les brins produits dans les deux glandes séparément ont une structure, et un comportement associé, similaires. C'est l'instant de la production qui va justifier du comportement local de la fibre, les facteurs du procédé de filage sont donc essentiels pour justifier le comportement mécanique. La composition du polymère est en effet identique dans les deux glandes. C'est au passage de la filière que les variations le long de la fibre se font.

Variation des propriétés le long de la fibre

On peut en effet observer une variation des propriétés le long de la fibre du cocon. On découvre dans la littérature qu'une étude statistique a pu montrer que les propriétés évoluent le long de la fibre sans trouver de corrélation par rapport à la position sur le fil [Zhao 07a]. Il y a, par contre, une corrélation négative entre le module initial (E_i), et la contrainte à rupture (σ_r), avec le diamètre des fibres. Or, il a pu être observé que ce diamètre diminue vers l'intérieur du cocon. On pourrait donc s'attendre à observer de telles évolutions le long de la fibre. Cependant, la dispersion des valeurs ne permet pas d'observer une telle corrélation. On peut constater que les propriétés sont relativement homogènes mis à part quelques sections, voir figure 3.3 (σ_r et ϵ_r : respectivement contrainte et déformation à rupture). Dans le cas de notre étude, la première section du cocon présente en effet des propriétés globalement inférieures au reste du cocon, et la dernière section présente la particularité d'avoir une section plus importante, les propriétés intrinsèques étant conservées. On n'observe donc pas d'évolution des propriétés mais des variations locales qui peuvent être significatives. Ceci ramène au procédé de filage qui peut être discontinu du fait que l'activité du ver n'est pas toujours régulière (ce qui ne mène pas à une discontinuité des propriétés de la fibre).

	E_i (GPa)	σ_r (MPa)	ϵ_r
1 (Ext.)	12,7 (0,1)	333 (66)	0,12 (0,05)
2	12,9 (0,5)	540 (31)	0,32 (0,02)
3	15,2 (0,3)	589 (64)	0,29 (0,07)
4	14,7 (0,6)	543 (19)	0,28 (0,02)
5 (Int.)	11,6 (1,0)	561 (15)	0,34 (0,01)

(a)



(b)

TAB. 3.3 – Evolution des propriétés le long de la fibre depuis l'extérieur (ext.) du cocon vers l'intérieur (int.) ; la σ_r, la ϵ_r, et le module initial sont représentés respectivement par des barres blanches, grises et une ligne

Le cas litigieux des fibres à allure singulière

Il faut également remarquer qu'il peut exister des allures de courbes de tractions singulières qui présentent une partie convexe de la courbe après les environs de la limite élastique, en début de plasticité, voir figure 3.15(c). Les courbes typiques se retrouvent quasi systématiquement dans la littérature [Mort 75] [Duna 95] [Part 96] [Zhan 07]. Cependant, ce type d'allure particulier peut être exceptionnellement retrouvé sans avoir pour autant été ni décrit ni justifié. Notamment, Pérez-Rigueiro observe ces deux types d'allure [Prez 98] mais constate également que le comportement du fil est le résultat de la somme du comportement des brins disposés en parallèles [Prez 00b], ce qui pourrait justifier que ce type d'allure survient par un non alignement des deux brins, mais cette hypothèse ne semble pas possible du fait de la production simultanée des brins. Une possibilité

dans ce sens serait que l'un des deux brins soit endommagé voir sectionné, et que le grès permette une reprise d'effort en court de traction.

Une autre proposition a récemment été abordée justifiant les variations d'allure par une hydratation dégressive du matériau par vieillissement. Le cas atypique se retrouverait plus fréquemment pour des cocons frais et disparaitrait par vieillissement ou par un procédé tel que le dévidage ou le mouillage. Ce comportement serait donc induit par de l'eau liée intimement à la matière et non libre dans le matériau [Jauz 09].

Cependant, cette allure s'assimile également, parfois, à des fibres pré-contraintes, cas visible sur la figure 3.16 qui montre l'évolution du comportement de fibres de soie sous un chargement cyclique. Une partie relèverait donc d'une erreur de manipulation, ce qui justifierait la rareté de ces spécimens qui ne se retrouvent que pour les fibres extraites manuellement de cocons (pas observé pour le fil standard) avec pour les 3 cocons observés, 131 fibres testées, et 11 fibres présentant cette allure, soit 7%. Le fait que ces fibres soient généralement consécutives et que leur déformation à rupture est systématiquement inférieure à la moyenne renforcent cette hypothèse même si aucune étude statistique n'a été menée durant ce travail à ce sujet. Il faut cependant relativiser cette remarque puisque parfois, c'est tout un segment qui présente cette particularité, il se pourrait donc que des phénomènes microstructuraux soient bien à l'origine de ce comportement particulier du début de plasticité.

Faute d'une compréhension superficielle de ces observations et du risque du facteur extérieur dû au manipulateur, ces fibres sont considérées comme aberrantes dans cette étude et seront négligées.

Evolution du comportement due à un historique de contrainte

L'évolution du comportement sous sollicitation cyclique a été observé pour évaluer l'impact d'une pré-contrainte involontaire lors de la préparation des échantillons, voir figure 3.16. Les fibres subissant une pré-contrainte au delà de leur limite d'élasticité présentent un comportement différent jusqu'au maximum de contrainte vu historiquement, la fibre de soie n'est donc pas purement élastique. De plus, au delà de ce maximum, les fibres ont un comportement similaire à celui d'une fibre non cyclée. On observe également une boucle d'hystérésis lors de la décharge - recharge, témoin de la dissipation énergétique du matériau. Cette dissipation évolue en fonction du nombre de cycle vers une stabilisation. Il y a donc un adoucissement cyclique associé à un comportement mécanique indépendant de l'historique une fois le maximum de cet historique dépassé.

Une particularité est observable juste une fois dépassé le maximum de contrainte historique. L'allure de la courbe ne suit pas parfaitement l'évolution obtenue à partir d'une traction monotone. En effet, les contraintes surpassent la courbe théorique sur une courte déformation. Ceci pourrait être une représentation des phénomènes de frottement à l'échelle moléculaire justifiant la différence entre des mécanismes continus d'une traction monotone et des mécanismes de plasticité étant déclenchés au delà du maximum historique. Ce phénomène n'a pas été étudié et ne peut donc pas être expliqué plus en détail pour l'instant.

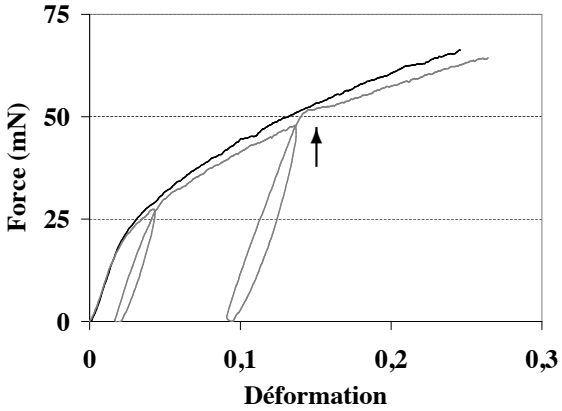


FIG. 3.16 – Courbe de traction cyclique d'une fibre de soie de *Bombyx mori*, flèche : sur-contrainte vraisemblablement due aux frottements moléculaires

Importance de la variabilité

Pour finir, il est important de noter un facteur primordial dans l'étude du comportement mécanique de la fibre de soie : l'importance prépondérante de la variabilité. En effet, comme beaucoup de fibres naturelles, la soie est sujette à une importante variabilité. Ceci peut s'expliquer par le nombre de facteurs innombrables mis en jeu par la production d'un polymère par un organisme vivant. Il en résulte une variabilité le long de la fibre à l'intérieur d'un même cocon et une variabilité entre cocons produits, chacun, par un ver différent, même si les races ainsi que les conditions d'élevage sont parfaitement identiques.

Le tableau 3.4 montre les variations de propriétés pour trois cocons décreusés, pour la pente initiale (Pente$_i$), la force à rupture (F$_r$) et la déformation à rupture (ϵ_r). Il n'a pas été obtenu de valeurs en contraintes car seules les sections du cocon Co3 ont été observées. On peut constater que les caractéristiques de chaque cocon sont significativement différentes. L'écart type d'une soie théorique regroupant l'ensemble des valeurs atteint alors, par exemple pour la mesure de la pente initiale, 1,1N pour une moyenne à 2,4N, la variabilité altère donc près de 50% de la valeur moyenne.

Cocon	Pente$_i$ (N)	F$_r$ (mN)	ϵ_r
Co1	1,3 (0,2)	69,7 (14,2)	0,26 (0,06)
Co2	2,6 (0,5)	120,8 (16,9)	0,22 (0,05)
Co3	3,4 (0,4)	139,4 (32,9)	0,28 (0,08)

TAB. 3.4 – Caractéristiques mécaniques de cocons de ver à soie de *Bombyx mori*

Cette même observation avait été faite précédemment pour les variations au sein d'un même cocon, voir figure 3.3 On peut observer graphiquement cette variabilité, comme montré dans la figure 3.17.

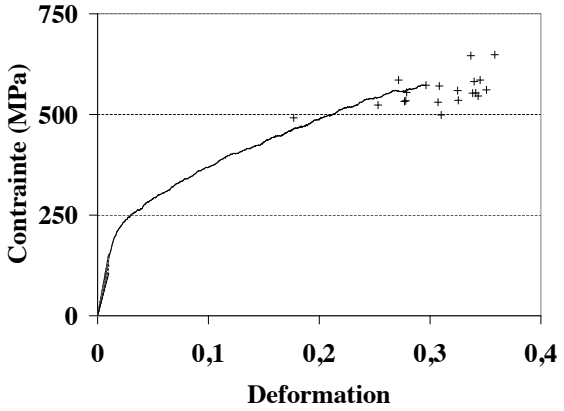


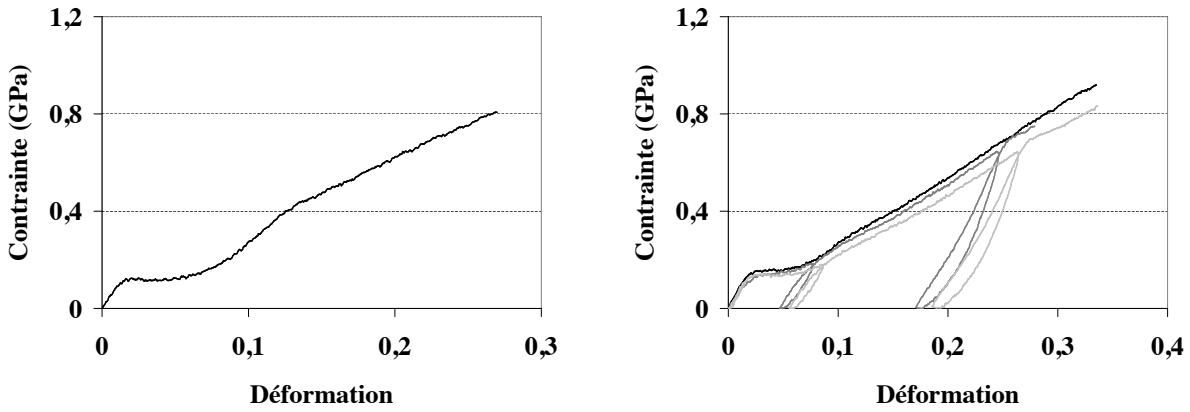
FIG. 3.17 – Courbe de traction moyenne d'une fibre de soie de *Bombyx mori* et la variabilité associée pour un même cocon, montrée par les valeurs à rupture (croix) et les pentes initiales (segments)

Cette variabilité intra-cocon peut s'expliquer par les différences de microstructures locales observées par l'étude de la morphologie tout comme par le nombre et le type de défauts. La variabilité extra-cocon peut s'expliquer par le nombre important de facteurs indissociables du vivant. La variabilité se traduit par des allures de comportement qui peuvent varier même si un type de comportement s'impose clairement. Elle se traduit également par des modifications de morphologies (section, défauts) et de caractéristiques intrinsèques (physiques et mécaniques). Est-il donc possible de réduire cette variabilité pour étudier plus en détail le comportement mécanique de la soie ? Nous proposons dans cette étude d'exploiter l'expérience de l'industrie qui a su moyenner les caractéristiques de la soie en associant ensemble un nombre significatif de fibres.

3.2.2 La caractérisation mécanique du fil de soie d'araignée *Nephila madagascariensis*

L'étude du fil d'araignée pose un certain nombre de problèmes de part la taille des fibres avec un diamètre inférieur à 10μm. Elles ne sont alors plus visibles à l'oeil nu, seul leur aspect soyeux (réflexion de la lumière) permet de les manipuler. De plus, le lot de fibres auquel nous avions accès datait de nombreuses années, l'historique des conditions vues par ces fibres durant leur stockage non contrôlé pose donc la question de la représentation réelle d'un tel échantillon. Enfin, ces fils extraits par la traite manuelle et artisanale des araignées ont été conditionnés ensembles. Or, on peut constater que deux lots distincts sont représentés avec un diamètre caractéristique moyen significativement différent. Il en résulte que d'un point de vue manipulation, il était complexe de séparer les fibres les unes des autres, de s'assurer de la présence d'une seule et unique fibre, ce qui justifie le peu de mesures effectué.

Les résultats obtenus pour les fibres jaunes translucides de plus grands diamètres sont pour le module initial de 5,4±2,0GPa, la contrainte à rupture de 664±138MPa, et la déformation à rupture de 0,23±0,05. Ces valeurs sont faibles comparées à la littérature, ce qui peut s'expliquer par le vieillissement des fibres pendant leur stockage. Cependant, on peut tout de même observer l'allure des courbes de traction caractéristique des fibres de *Nephila madagascariensis*, voir 3.18. Ces courbes se distinguent par la présence d'un plateau en début de plasticité.



(a) (b)

FIG. 3.18 – (a) Courbe de traction typique d'une fibre d'araignée *Nephila madagascariensis*, (b) deux essais cycliques (gris) sont comparés à un essai de traction monotone (noir)

3.2.3 La caractérisation mécanique du fil de soie modifiée génétiquement

Pour la première fois, de la soie de *Bombyx mori* modifiée génétiquement a pu être décrite mécaniquement. En effet, la modification génétique du ver à soie pour obtenir de nouvelles propriétés mécaniques fait parti de l'innovation la plus à la pointe actuellement. On peut retrouver des tentatives de ce type dans la littérature, mais la protéine d'intérêt produite était incorporée dans le grès et non la fibroïne [Wen 10]. L'équipe de l'UNS a donc pu faire produire à des vers de *Bombyx mori* un segment de spidroïne contenant le motif répétitif d'intérêt au sein de la fibroïne. Ce segment associé à une protéine de fusion (GFP) se substitue à la chaine légère pour se fixer par pont-disulfure à la chaine lourde de fibroïne pour être filé au sein même du brin. Ainsi, un fil contenant environ 3% de spidroïne a été obtenu.

Une courbe de traction typique peut être extraite de ces expériences, elle est présentée figure 3.19. On constate qu'il n'y a pas de modification significative de l'allure par rapport à une fibre de *Bombyx mori* classique. D'un point de vue simplement qualitatif, il n'y a donc pas convergence vers un type de soie 'araignée'.

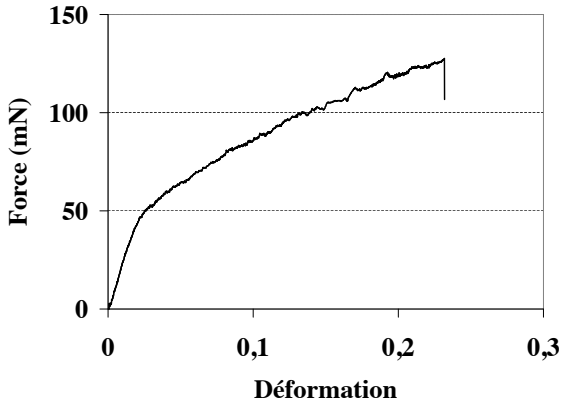
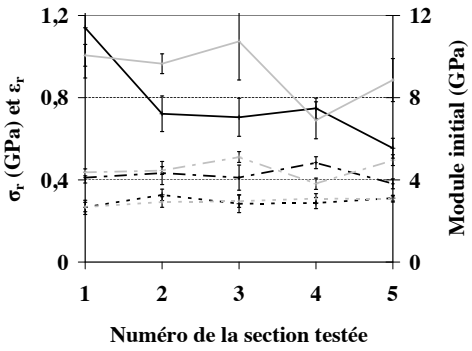


FIG. 3.19 – Courbe de traction typique d'un fil de soie de *Bombyx mori* génétiquement modifié

Les caractéristiques mécaniques des cocons de vers génétiquement modifiés sont présentées dans le tableau 3.5(a). On constate qu'il existe toujours une variabilité entre cocons, mais celle-ci est moins significative que pour les cocons étudiés précédemment. Le cocon GMO3 présente par contre des caractéristiques éloignées des trois autres cocons avec des propriétés plus faibles à rupture notamment, il sera donc ignoré ultérieurement. Les sections du cocon OGMi n'ont pas été mesurées, il n'y a donc pas de données en contrainte pour ce cocon.

Cocon	Pente$_i$ (N)	F$_r$ (mN)	ϵ_r
GMOi	2,6 (0,5)	145 (15)	0,29 (0,04)
GMO1	2,5 (0,8)	136 (14)	0,30 (0,04)
GMO2	2,6 (0,4)	126 (11)	0,29 (0,03)
GMO3	3,0 (0,3)	114 (08)	0,26 (0,04)

(a)



(b)

TAB. 3.5 – Variabilité inter- (a) et intra- (b) cocons pour les vers modifiés génétiquement, les valeurs de σ_r (lignes pointillées), de ϵ_r (points) et de module initial (ligne) sont représentées pour les cocons GMO1 et GMO2 (respectivement gris et noir)

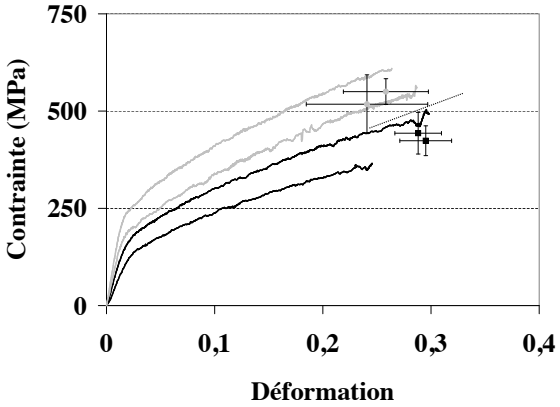
Il peut également être observé la variabilité au sein de chaque cocon, voir figure 3.5(b). On constate que le module initial présente une tendance à la décroissance vers l'intérieur du cocon. Cependant, à la vue de la dispersion (écart type) et de la faible reproductibilité, il ne semble pas se dégager de variation significative.

Enfin, les valeurs pour les propriétés mécaniques obtenues pour les vers modifiés génétiquement ne doivent pas être comparées avec n'importe quelle race de *Bombyx mori* pour observer l'impact de la modification génétique en tant que facteur principal. Il a donc été mesuré les propriétés mécaniques de la race témoin qui était à l'origine de la race modifiée, la race Nistari. Il en résulte les valeurs présentées dans le tableau 3.6(a).

On constate que le module initial diminue de 35% par rapport aux témoins, la contrainte à rupture diminue de 29% et la déformation à rupture augmente de 18%. Il a donc été obtenu un matériau moins rigide avec une déformabilité plus importante. Ces différences de propriétés mécaniques se retrouvent généralement pour des matériaux moins cristallins ou moins orientés. La modification génétique a donc certainement modifié la matière à l'échelle microstructurale, cette hypothèse sera discutée plus loin, dans le chapitre 4.

Cocon	E_i (GPa)	σ_r (MPa)	ϵ_r
Tem1	11,9 (2,5)	518 (76)	0,24 (0,06)
Tem2	14,0 (1,5)	550 (33)	0,26 (0,04)
GMO1	7,7 (2,2)	424 (38)	0,30 (0,02)
GMO2	9,2 (1,3)	443 (53)	0,29 (0,02)
Ratio	65%	81%	118%

(a)



(b)

TAB. 3.6 – (a) Impact de la modification génétique sur les propriétés mécaniques, (b) les valeurs moyennes et une courbe type pour chaque cocon témoin (gris) et issu des organismes modifiés (noir) sont représentées

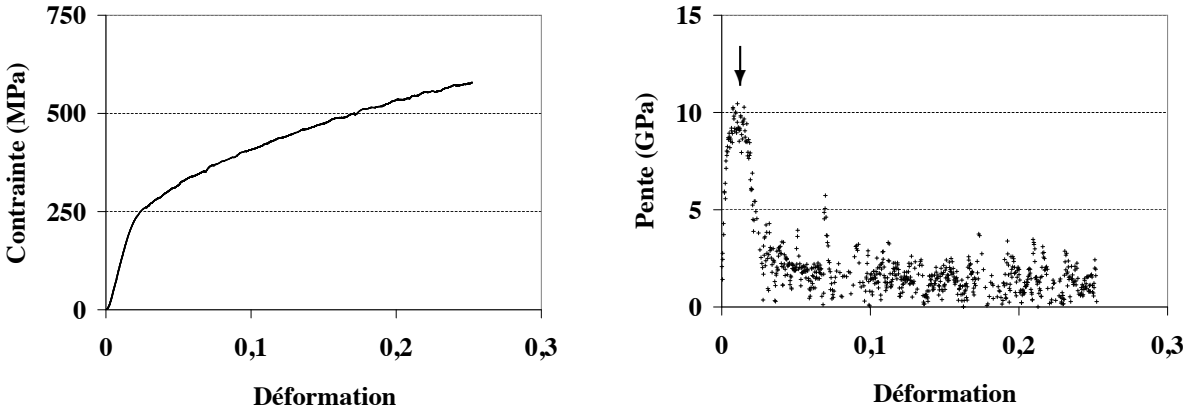
Il y a donc une modification significative des propriétés mécaniques associées à la modification génétique, il reste donc à comprendre l'influence de la génétique sur la microstructure pour expliquer ce phénomène.

3.2.4 La caractérisation mécanique du fil industriel

Traction

Le principal matériau utilisé dans cette étude a été le fil industriel standard, une courbe typique de traction est présentée figure 3.20. On constate la similitude avec les fils de soie extraits de cocons, il s'agit en effet d'un assemblage obtenu par le dévidage simultané d'environ sept fils de cocons différents mis en parallèle. Ce matériau présente l'avantage de moyenner les propriétés mécaniques et donc de réduire la variabilité. De plus, par le plus grand nombre de fils, il exacerbe certains phénomènes et permet notamment de mieux appréhender l'importance du grès comme cela sera présenté ultérieurement. Enfin, il est représentatif à plus grande échelle des fils de cocon seuls, il permet un usage plus facile pour l'expérimentation et une sensibilité relative accrue des mesures.

Les valeurs concernant les propriétés mécaniques obtenues sont présentées dans le tableau 3.7 (E_i : module initial), la section considérée est de 1590μm^2.



(a) (b)

FIG. 3.20 – Courbe de traction typique d'un fil industriel (a) et la dérivée associée, flèche : module initial (b)

Fil industriel standard	E_i (GPa)	σ_r (MPa)	ϵ_r
	13,5 (1,4)	578 (43)	0,27 (0,02)

TAB. 3.7 – Propriétés mécaniques du fil industriel

Homogénéité longitudinale

Il a premièrement été étudié l'influence de la longueur de jauge (L_j), longueur de l'échantillon utilisé pour l'essai de traction, sur ce type de matériau. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.8.

On constate que la longueur de jauge a une influence significative sur les propriétés mécaniques à rupture. Ainsi, les valeurs à ruptures diminuent avec la longueur de jauge. Si l'on considère que la densité de défauts est relativement homogène le long de la fibre, augmenter la longueur de jauge, revient à dire que le nombre de défauts augmente dans l'échantillon testé (le raisonnement est validé également en volume). Les probabilités de rupture sont donc accrues ce qui explique la tendance observée.

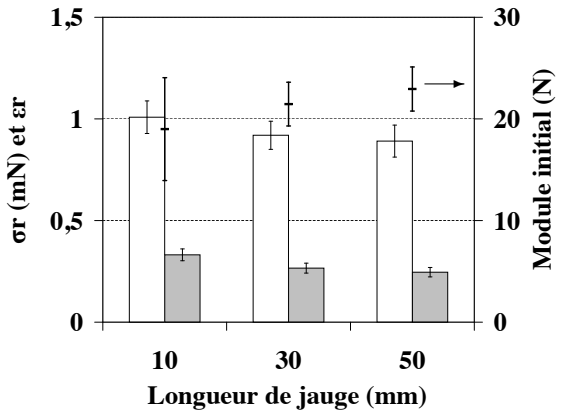
De plus, on constate que le module moyen augmente avec la longueur de jauge. Ceci est à associé à la diminution importante de l'écart type de cette valeur en fonction de la longueur de jauge. En effet, la longueur de jauge ne modifie pas la propriété intrinsèque du module, propre au matériau, mais permet d'observer les variations longitudinales du fil. Cette observation peut ainsi être expliquée par la présence d'un matériau non homogène dans la longueur à l'échelle observée. Ainsi, la fibre pourrait être composée de segments alternatifs en série de module initial variable. Les petites longueurs de jauge permettraient donc d'observer les propriétés et la proportion de chaque type de segment. Plus la longueur de jauge augmente, plus les valeurs sont moyennées vers une asymptote, la valeur proportionnelle de chacun des modules. Cette mesure peut être associée aux

observations de variations longitudinales du fil avec une période de l'ordre de 6mm. Les segments extrudés ou étirés pourraient donc justifier cette variabilité longitudinale à l'échelle du millimètre, ceux-ci pouvant présenter des modules différents. Il n'est malheureusement pas envisageable de tester les différents types de segment seuls car, en dessous de 10mm, les mors commencent à être trop proches et la mise en place complexe. La sollicitation en traction pure n'est alors pas assurée.

La longueur de jauge de 30mm a été privilégiée dans la suite de l'étude pour un aspect pratique, ce qui est acceptable puisque les valeurs obtenues à cette longueur de jauge sont proches de celles obtenues avec 50mm, donc proches de l'asymptote supposée.

L_j (mm)	$Pente_i$ (N)	F_r (mN)	ϵ_r
10	19,0 (5,1)	1008 (80)	0,33 (0,03)
30	21,5 (2,2)	919 (69)	0,27 (0,02)
50	22,9 (2,2)	891 (79)	0,25 (0,02)

(a)



(b)

TAB. 3.8 – Impact de la longueur de jauge sur les propriétés mécaniques

Viscosité

Ensuite, il a été pratiqué des essais à différentes vitesses afin de s'assurer de la dépendance ou non des essais à un effet de vitesse et d'évaluer l'impact de la viscosité sur les propriétés mécaniques. Le tableau 3.9 témoigne de cet impact. Le matériau est plutôt visco-plastique, ce qui se traduit par des propriétés à rupture qui augmentent avec la vitesse. Ceci pourrait s'expliquer par une cinétique de rupture de l'ordre de grandeur des vitesses pratiquées, soit assez lente. La présence de viscosité dans la partie élastique est cependant discutable par le manque de significativité. Il pourrait s'agir d'un biais expérimental.

Dans la suite de l'étude, la vitesse de 10mm/min a été privilégiée, ce qui revient, pour une longueur de jauge de 30mm, à une vitesse de déformation de $5{,}6.10^{-4}s^{-1}$.

Plasticité

La plasticité peut être évaluée par des essais de recouvrance. Il a donc été effectué des chargements à différentes déformations puis une recouvrance afin d'obtenir la nouvelle longueur de jauge. Cette différence de longueur de jauge est une déformation irréversible due au phénomène de plasticité. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.21. La soie est donc un matériau visco-élasto-plastique.

On constate que la plasticité du fil industriel commence à ne plus être négligeable au delà du seuil de 400mN. Elle peut être considérée comme linéaire, une régression linéaire donne alors un début de plasticité à 423mN et une pente de 2600mN, le coefficient de corrélation étant de 0,92. Ces valeurs de contrainte correspondent respectivement à des valeurs de déformation de 0,02 et 0,03, rapportées à la courbe de traction du fil industriel.

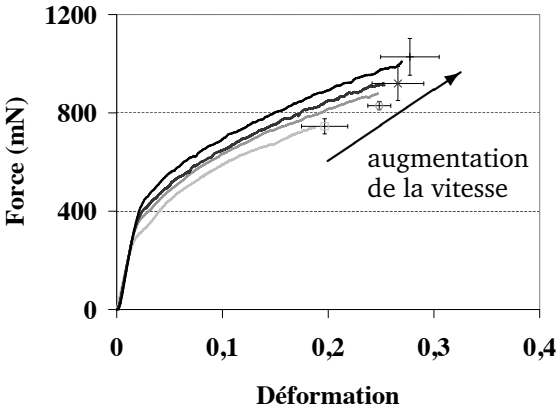
Evaluation de la viscosité

Des tests de relaxation et de fluage permettent d'évaluer le comportement visqueux du matériau avec plus de précision. On peut ainsi obtenir des temps caractéristiques et des vitesses de fluage pour différentes déformations et contraintes. Les résultats sont montrés en figure 3.22.

Les essais de relaxation étant plus faciles à mettre en place, la variabilité est inférieure à celle des essais de fluage. La vitesse de relaxation varie en fonction de la déformation, la viscosité est donc non linéaire. Le phénomène de viscosité pour les déformations élastiques semble non négligeable et présente une évolution cohérente même si le taux de relaxation est alors faible. On retrouve alors la limite d'élasticité à une déformation

$\dot{\epsilon}$ (s^{-1})	Pente$_i$ (N)	F$_r$ (mN)	ϵ_r
5,6^{-5}	19,6 (0,5)	745 (31)	0,20 (0,02)
5,6^{-4}	21,4 (2,8)	829 (17)	0,25 (0,01)
5,6^{-3}	21,5 (2,2)	919 (69)	0,27 (0,02)
5,6^{-2}	23,5 (1,8)	1028 (75)	0,28 (0,03)

(a)



(b)

TAB. 3.9 – Impact de la vitesse de déformation sur les propriétés mécaniques (5,6^{-4} est équivalent à 5,6.10^{-4})

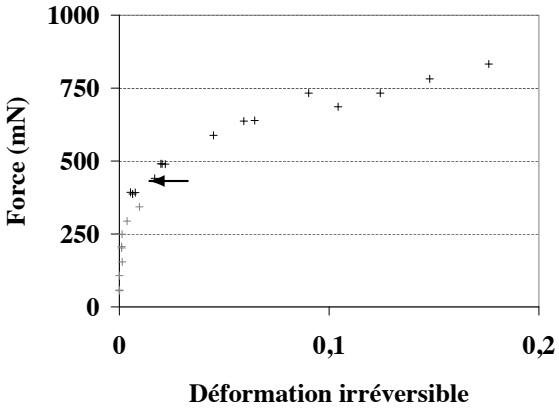
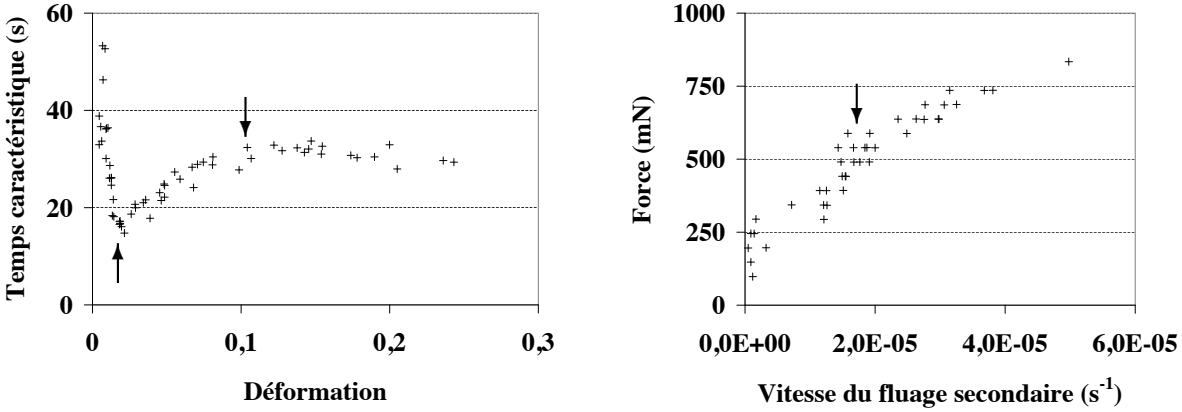


FIG. 3.21 – Déformation irréversible observée lors d'essais de recouvrance, flèche : limite d'élasticité



(a) (b)

FIG. 3.22 – Evaluation de la viscosité du fil industriel par des essais de relaxation (a) et de fluage (b), flèches : changements de comportement

de 0,02. Pour les essais de fluage, il peut être envisagé un changement de pente aux environs de 500mN, mais la dispersion ne permet pas d'observer une tendance claire.

Il est intéressant de remarquer qu'un autre point caractéristique est visible sur les essais de relaxation. Il se situe à une déformation de 0,1, soit une force de 646mN, en référence à la courbe typique du fil industriel. Or, c'est au delà de ce seuil que les fibres commencent à rompre précocement en fluage. Ce seuil pourrait donc s'assimiler à un début d'endommagement.

Endommagement

L'endommagement peut être évalué par des essais cycliques. Le module initial de fils industriels a donc été mesuré au cours d'essais cycliques suivant un historique de contrainte maximale croissant, voir figure 3.23. On constate que l'endommagement débute aux environs de 400mN, il est donc concomitant à la plasticité. Plus exactement, la plasticité s'assimile donc à un endommagement.

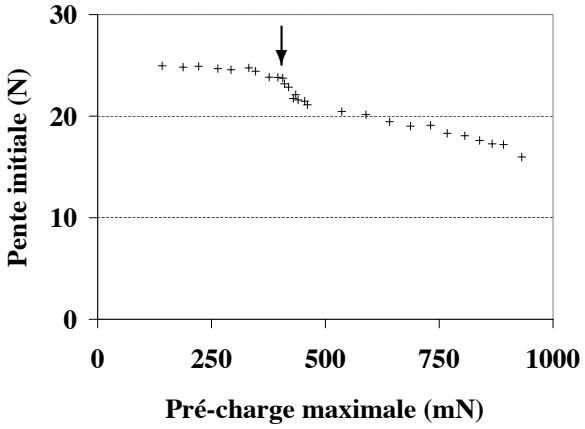


FIG. 3.23 – Endommagement observé lors d'essais cycliques

Le fil industriel a donc un comportement visco-élasto-plastique avec une limite d'élasticité évaluée à une force seuil de 423mN et une déformation de 0,02. Le module élastique est évalué à 13,5 GPa et les caractéristiques à rupture à 578 MPa pour la contrainte et 0,27 pour la déformation. La viscosité est non linéaire alors que la plasticité peut être considérée comme linéaire.

3.2.5 La caractérisation mécanique du fil industriel décreusé

Le problème que représente le fil industriel comme matériau d'étude, c'est qu'il présente déjà deux composants : la fibroïne ainsi que le grès. C'est donc non seulement un assemblage, c'est plus exactement un composite. Le grès a pourtant historiquement été négligé et l'on conférait les pertes de propriété du fil décreusé au traitement chimique indispensable au dévidage [Prez 00b]. Nous avons cherché ici à étudier les propriétés mécaniques du fil industriel décreusé.

Pour commencer, la figure 3.24 présente la courbe de traction typique du fil industriel décreusé. Celle-ci est comparée au fil industriel non décreusé et à un brin extrait du fil décreusé. Le comportement est significativement modifié depuis le début de la traction jusqu'au processus de rupture. En effet, le grès permet de moyenner les performances à rupture empêchant la rupture des brins les plus faibles et accélérant la rupture des brins les plus résistants. Il effectue donc un travail de transmission de l'effort menant à une rupture totale et unitaire de l'échantillon. Ceci s'assimile donc parfaitement au comportement d'un composite. Dans le cas du fil décreusé, on peut donc retrouver la rupture distinct de l'ensemble des brins qui le composent, ici 16.

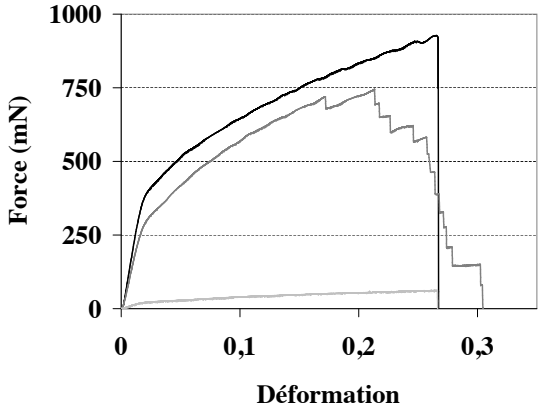
Les valeurs caractéristiques obtenues pour les propriétés mécaniques sont montrées dans le tableau 3.10. Les fils industriels ont principalement été décreusés dans une solution de carbonate de sodium (Std). Mais une partie a été décreusée uniquement par de l'eau distillée (Std_{eau}) pour comparer l'impact des procédés. Les pentes initiales ne sont pas significativement différentes ce qui veut dire qu'intrinsèquement la matière n'est pas fondamentalement modifiée. Par contre, le décreusage à l'eau semble augmenter le nombre de défauts en réduisant fortement les propriétés à rupture. La durée du décreusage à l'eau dans un milieu chaud et agité (20 heures au lieu de 20 minutes) est certainement la cause de l'augmentation du nombre de défauts ou de leur fragilisation.

Il faut noter que les valeurs à rupture sont données pour le premier brin rompu. On constate que la valeur est significativement inférieure, pour la déformation, par rapport au fil non décreusé, ce qui montre que la constitution en composite du fil industriel permet d'améliorer les performances. La pente initiale du fil décreusé au carbonate de sodium diminue significativement de 21% par rapport au fil standard. Il y a donc une perte importante des propriétés, mais pas uniquement due au type de traitement. C'est vraisemblablement la perte du grès qui induit cette perte de propriétés. Ce facteur ne pouvait être visible dans l'utilisation de simples fils extraits de cocon car le grès était en trop faible quantité et son effet été négligeable face à la variabilité. L'utilisation de fil industriel a montré que le grès avait de vraies propriétés mécaniques et que sa présence permettait un effet composite.

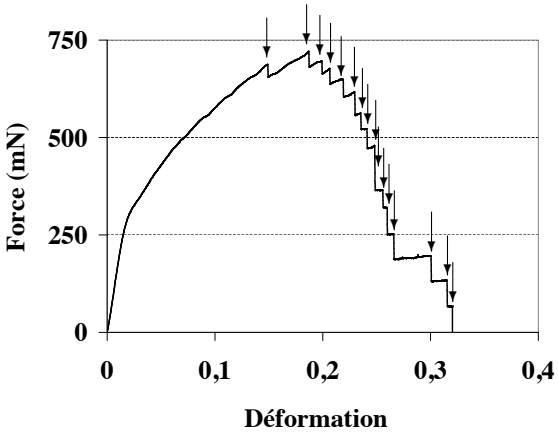
	Pente_i (N)	F_r (mN)	ϵ_r
St	21,5 (2,2)	919 (69)	0,27 (0,02)
Std	17,0 (1,5)	736 (72)	0,19 (0,03)
StdU	1,3 (0,4)	56 (13)	0,22 (0,04)
Std_{eau}	19,7 (1,7)	549 (53)	0,16 (0,01)

TAB. 3.10 – Caractéristiques mécaniques du fil industriel décreusé par une solution ionique (Std) ou de l'eau distillée (Std_{eau}) et des brins qui le compose (StdU)

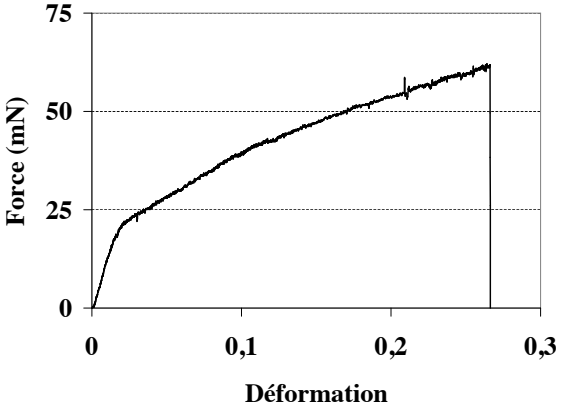
Les brins unitaires composant le fil industriel décreusé ont ensuite été testés dans leur ensemble. On constate que la somme des forces de chaque brin pendant la traction permet de retrouver l'allure du fil industriel décreusé, voir figure 3.25. Le fil industriel décreusé est donc un excellent matériau d'étude pour caractériser les fibres de soie en moyennant les propriétés. Il faut cependant rester conscient que le facteur traitement chimique est difficilement quantifiable, et que le fil industriel décreusé correspond à un assemblage, d'autres paramètres de type tribologiques pourraient donc entrer en jeu. Cette nature d'assemblage se remarque si l'on compare la pente initiale moyenne des brins multipliée par le nombre moyen de brins dans un fil standard (1,3*14,7=19,0 (5,8)), et la pente initiale du fil industriel décreusé. La pente initiale du fil décreusé est légèrement inférieure, même si la différence n'est pas significative. Ceci s'explique par un léger défaut d'alignement des fils extraits de cocons pour le fil industriel. Ce défaut est visible sur la figure 3.25, et justifie l'allure de la courbe de traction du fil industriel décreusé aux faibles déformations.



(a)



(b)



(c)

FIG. 3.24 – (a) Comparaison entre le fil industriel décreusé (gris foncé) ou non (noir) et une fibre unitaire (gris clair), (b) courbe typique de fil industriel décreusé, (c) courbe typique d'un brin extrait d'un fil industriel

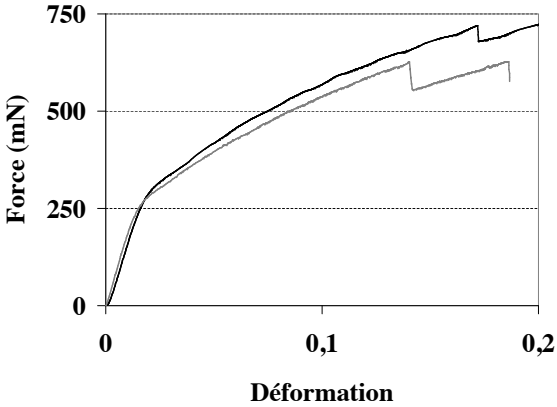


FIG. 3.25 – Comparaison entre le fil industriel décreusé (noir) et l'ensemble de ses brins (gris)

La plasticité du fil industriel décreusé a été étudiée, elle est présentée en figure 3.26. On observe que la limite d'élasticité de situe aux environs de 350mN. Une régression linéaire positionne cette limite à 389mN avec une pente de 5907mN, le coefficient de corrélation est de 0,95. Le seuil de plasticité semble cependant surestimé par rapport à une observation graphique de l'ordre de 300mN. Il n'y pas vraiment d'explications à ceci mis à part la précision de la mesure. On peut également constater que la simplification de la plasticité à un processus linéaire est plus discutable dans le cas du fil industriel décreusé, notamment en début de plasticité. En déformation, le seuil est à 0,02. Il faut aussi noter que la valeur de pente ne peut être comparée au fil standard non décreusé car il faudrait normaliser par la section ce qui n'est pas possible. Des essais succincts en relaxation donnent un temps caractéristique minimal de 19,5s, ils serviront à l'indentification des paramètres du modèle, voir la partie 5. Quelques essais ont également été effectués en fluage sans être exploités.

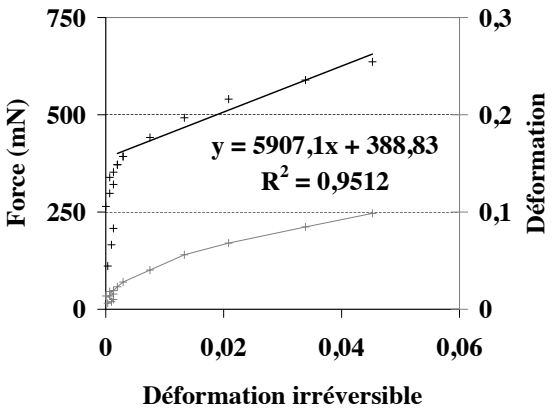


FIG. 3.26 – Déformation irréversible induite par une traction cyclique avec recouvrance

Avec les données accumulées, il serait intéressant de calculer un module initial pour la sérine. Cependant, la fraction volumique donnée par la surface de grès reste manquante. Information qui peut être compensée par la mesure de la fraction massique, les densités de chaque composant, fibroïne et séricines, étant connues (1,28 et 1,4 respectivement [Mort 75]). Mais les incertitudes sur la fraction massique du grès ne permettent pas d'avoir suffisamment de précision pour un tel calcul. En effet, lors des deux décreusages en solution de carbonate de sodium et en eau distillée, les fractions massiques obtenues ont été respectivement, 0,203 et 0,239. Une valeur que l'on retrouve dans la littérature évalue le taux de grès à 0,266 pour un cocon de *Bombyx mori* [Ki 07c]. Les valeurs inférieures obtenues se justifient par le dévidage des cocons déjà opéré par l'industriel, procédé qui dissout partiellement le grès. Pour ces trois valeurs de fraction massique, on obtient les modules initiaux respectifs de 16,5GPa, 14,1GPa et 11,6GPa. On constate donc tout de même que les valeurs sont de l'ordre de grandeur de la fibroïne, ce qui va à l'encontre des préjugés observés dans la littérature. Le comportement du grès s'assimile donc certainement plus à un comportement élastique ou visco-élastique justifiant les faciès de rupture du type 'fragile' avec un module initial non négligeable.

3.2.6 Traction *in situ* en observation microscopique

Des essais de traction *in situ* on été effectués pendant une observation au microscope électronique, voir figure 3.27. On constate une fissuration transversale de la gaine de séricines au cours de la traction. La densité de fissure est montrée figure 3.28. Celle-ci croit de façon sigmoïde jusqu'à un extremum. Le point d'inflexion semble se situer vers une déformation de 0,045 mais les données ne sont pas suffisamment complètes pour une mesure précise.

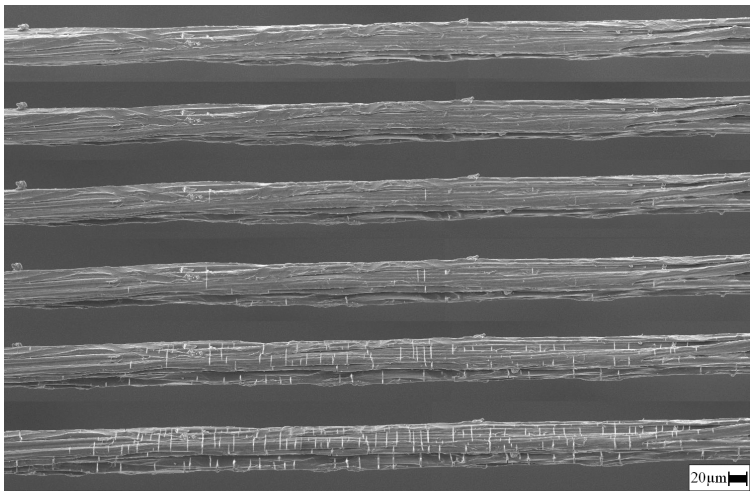


FIG. 3.27 – Observation d'une traction *in situ* pendant une observation en microscopie électronique, les paliers de déformation sont de haut en bas : 0,005 ; 0,01 ; 0,025 ; 0,033 ; 0,050 ; 0,066

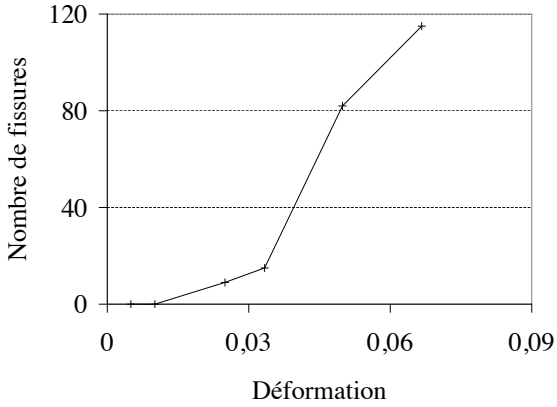


FIG. 3.28 – Evolution de la densité de fissures sous traction pour la longueur observée (830μm)

La rupture est précoce pour ce type d'essai, ceci peut s'expliquer par les conditions difficiles d'un vide poussé. Si l'on considère les fissures majeures mettant en jeu au moins la largeur d'un fil extrait de cocon, on peut observer la convergence de la distance qui les sépare vers une longueur critique de 17,8μm. Ceci permet de calculer une contrainte maximale de cisaillement à l'interface fibre-matrice grâce à l'équation 3.2 [Buns 05].

$$lc/r = \sigma_u/2.\tau_y \tag{3.2}$$

Avec lc, la longueur critique minimale entre deux fissures ; r, le rayon du fil ; σ_u, la contrainte à rupture de la gaine, et τ_y, la contrainte de cisaillement à l'interface maximale. On observe en effet que la gaine de séricines commence à fissurer à une déformation de 0,02, soit une contrainte de 230 MPa en considérant la courbe typique du fil industriel. Le système peut être considéré en parallèle ce qui permet d'affirmer que la contrainte locale est égale à la contrainte globale. On obtient alors une approximation de l'ordre de 145MPa pour la valeur à rupture de la contrainte de cisaillement entre la fibroïne et le grès.

3.2.7 Test mécanique complexe

Pour finir, un test mécanique complexe a été effectué. Il a pour ambition d'extraire la valeur des différentes énergies induites pendant la traction : élasticité, viscosité et plasticité. Pour ceci, le test comprend des tractions à une vitesse connue, des relaxations afin d'enlever tout effet visqueux, et des décharges. En effet, après un certain temps de relaxation, l'ensemble des phénomènes de mobilité à l'échelle moléculaire sont supposés effectués, le matériau est alors assimilable à un état stable sans viscosité. Pour rappel, la procédure du test est décrite en figure 3.29. Les résultats pour le fil industriel décreusé et non décreusé sont montrés en figure 3.30.

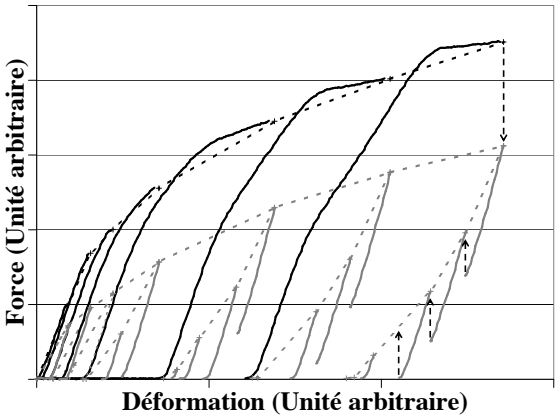
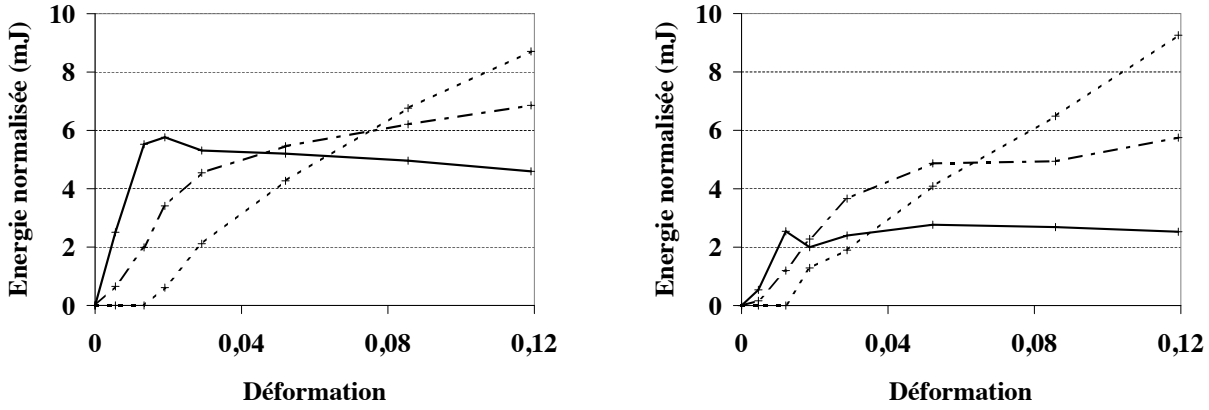


FIG. 3.29 – Essais mécaniques complexes : des cycles avec un maximum de charge croissant sont effectués. Chaque cycle comprend une traction (ligne noire), une relaxation (flèche en pointillé), une série de décharges alternées de relaxations (respectivement, lignes et flèches pointillées grises) jusqu'à flambage de la fibre. Il en résulte une courbe de traction virtuelle à une vitesse donnée (ligne pointillée noire) et des courbes virtuelles sans viscosité de charge et de décharges (lignes pointillées grises)

On peut donc extraire une courbe purement élasto-plastique de ce type d'essai. De plus, les énergies peuvent être calculées pour chaque déformation. Ainsi, l'aire entre la courbe de traction initiale et la courbe virtuelle élasto-plastique donne l'énergie de viscosité pour la vitesse de traction choisie. L'aire sous la courbe de décharge virtuelle élastique donne l'énergie d'élasticité. Enfin, la surface restante permet d'obtenir l'énergie de plasticité.



(a) (b)

FIG. 3.30 – Résultats des essais mécaniques complexes pour le fil industriel standard (a) et standard décreusé (b) ; l'élasticité (ligne), la viscosité (traits pointés), et la plasticité (pointillés) sont représentées en énergie normalisée par la déformation

On observe que l'élasticité et la viscosité sont linéaires pendant la phase élastique. Au delà de la limite élastique, l'élasticité reste constante, alors que la viscosité reste linéaire avec une diminution de la pente. La plasticité débute et suis une tendance linéaire.

On voit que les courbes de plasticité sont similaires pour les deux échantillons, il semble donc que la présence de grès n'influe que sur l'élasticité et la viscosité, en augmentant notamment fortement l'élasticité. On ne peut cependant pas observer l'impact de la fissuration de la gaine de séricines pendant la phase plastique car ce type d'essais longs en durée ne permet pas d'aller à des déformations suffisamment importantes, la rupture survenant précocement en déformation.

Le principal problème dans ce type de résultats reste l'interprétation. Il est notamment complexe de relier les observations à une réalité microstructurale et à des phénomènes mécaniques. Cependant, ces essais permettent d'être une validation intéressante pour la modélisation et permettent notamment d'obtenir une courbe virtuelle sans viscosité, idéale pour valider l'élasto-plasticité.

3.2.8 Etude succincte en fatigue

Pour finir, quelques tests en fatigue on été pratiqués sur le fil industriel standard non décreusé. Ces essais consistent en une sollicitation cyclique de type sinusoïdale depuis une charge nulle jusqu'à une charge contrôlée. Les fibres sont maintenues jusqu'à rupture. Les résultats sont montrés dans la figure 3.31.

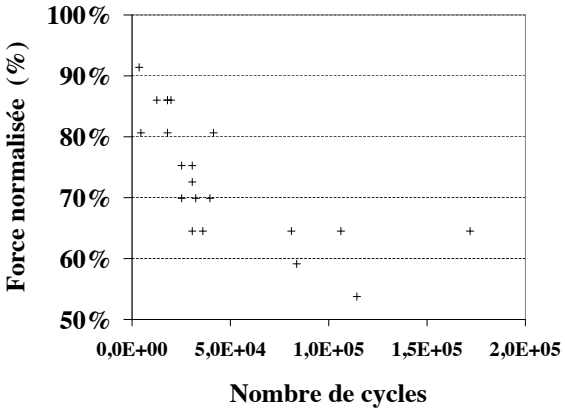


FIG. 3.31 – Essais de fatigue, la force est normalisée par la force moyenne à rupture, les points représentent la rupture pour chaque fibre

On constate que les fibres testées avec une force maximale inférieure à 51% de la force à rupture n'ont pas rompu et ne sont donc pas représentées.

3.3 Discussion sur l'apport de la mécanique

La caractérisation mécanique permet donc de répondre à un certain nombre de questions concernant la soie en temps que polymère à base de fibroïne et en tant que structure comprenant deux composants : la fibroïne et le grès. Cette discussion s'articulera donc en deux parties. Premièrement, le polymère fibroïne sera décrit en tant que matériau. Puis, son assemblage avec une matrice de séricines formant un composite sera analysé.

Caractérisation des fibres de fibroïne

L'âme du fil de soie est donc composée de fibres de fibroïne. Ces fibres ont une section inférieure à cent micromètres en moyenne. Leur section est complexe, elle peut s'assimiler la plupart du temps à un triangle rectangle imparfait. Ces fibres sont globalement orientées provoquant une anisotropie longitudinale, la lumière polarisée est ainsi diffractée. Cependant, elles présentent une variabilité longitudinale importante avec des zones déformées pendant le filage induisant, semble-t-il, une absence d'anisotropie locale. Ces déformations locales ont une périodicité d'environ 6mm, elles sont produites par le filage discontinu du ver établissant des points de contact sur le cocon alternatifs de part et d'autre de sa tête. Ces points de contact sont séparés par des segments étirés et ainsi orientés. Il peut également être constaté que la section diminue dans la longueur, associée à une diminution de la circularité. C'est en effet principalement le petit côté du triangle qui est affecté par la diminution.

Les brins associés lors du filage possèdent des propriétés similaires, ce qui atteste de l'importance des paramètres lors du filage. Le filage semble donc être l'élément clef pour justifier des propriétés mécaniques finales du matériau. Ceci a été abordé dans la littérature par des variations artificielles de vitesse de filage menant à une amélioration des propriétés mécaniques [Shao 02].

Afin d'étudier plus précisément les propriétés mécaniques, l'usage d'un assemblage de fibres en parallèle a été privilégié, menant à un moyennage des valeurs. Ces assemblages obtenus à partir de fil industriel décreusé, comportent un ensemble de 12 à 18 fibres mises en parallèle. Un mésalignement est perceptible mais négligeable, les propriétés obtenues sont donc caractéristiques du polymère sous forme de fibre.

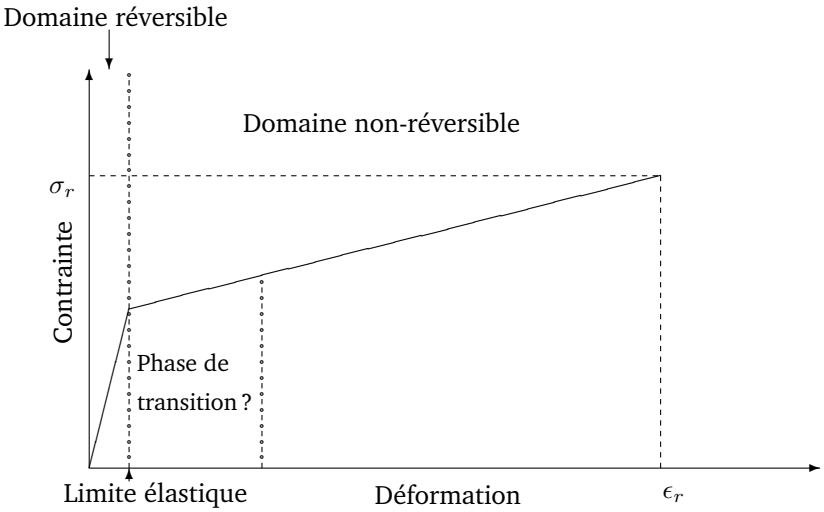


FIG. 3.32 – Comportement mécanique de la fibroïne sous forme de fibre

Ainsi, le polymère de fibroïne possède un comportement visco-élasto-plastique. Une courbe caractéristique est décrite en figure 3.32. Le comportement est réversible en dessous de la limite élastique et une déformation irréversible plastique apparait au dessus de cette limite. Le comportement est dépendant du temps sur l'ensemble des déformations. Les différentes énergies induites ont, *a priori*, une évolution linéaire. Le seuil de plasticité est évalué à une déformation de 0,02 et une force d'environ 20mN pour un brin, soit une contrainte de 250MPa avec une section de brin de 80μm^2 ([201-(0,2*201)]/2). Les propriétés en plasticité sont caractérisées par un comportement mécanique indépendant de l'historique une fois le maximum de cet historique dépassé. Sous sollicitation cyclique, le polymère présente un adoucissement cyclique.

Les propriétés semblent non homogènes longitudinalement. On peut alors imaginer une représentation de la fibre par une mise en série de segments de propriétés mécaniques différentes avec des segments moins orientés et donc moins rigides, et des segments avec des propriétés opposées, voir la figure 3.33.

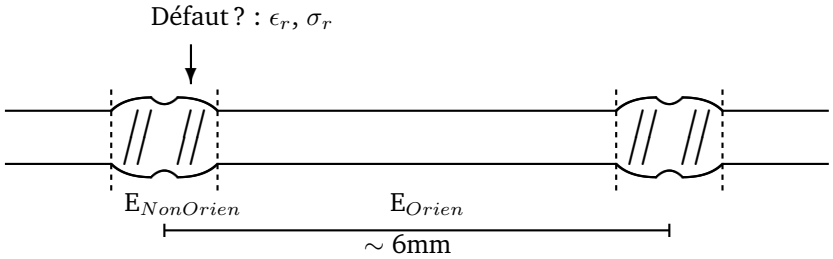


FIG. 3.33 – Schématisation longitudinale d'une fibre de fibroïne

Il est possible de modifier ces propriétés par voie biotechnologique. Ainsi, l'incorporation d'une protéine fusion, comprenant un segment de spidroïne et une protéine fluorescente, dans le génome mène à son expression et son inclusion dans la matière. Cette protéine fusion prend la place de la chaine légère de fibroïne et construit un pont di-sulfure avec la chaine lourde. Il en résulte une modification des propriétés mécaniques avec une baisse de rigidité (65% du témoin) et une augmentation de la déformabilité (118% du témoin).

Ces variations de comportement mécanique s'accompagnent d'une augmentation importante de la section (169% du témoin). Ces changements ne semblent pas s'expliquer par une hygrométrie du matériau final supérieure. Ceci aurait pu être attendu connaissant la forte hydrophilie de la GFP (Green Fluorescent Protein). Par contre, l'inclusion de la protéine fusion artificielle modifie sûrement les propriétés rhéologiques du gel avant filage menant à un processus de filage modifié induisant ces dits changements [Pere 07] [Li 01]. Cependant, cette hypothèse n'a pu être prouvée par la difficulté d'une telle analyse avec le peu de matière facilement extractible des glandes.

Il y a donc certainement des variations microstructurales résultant des changements lors du filage expliquant cette influence sur le comportement mécanique.

Enfin, les faciès de rupture sont généralement caractéristiques d'un polymère semi-cristallin. Cette même rupture est induite par des défauts internes à la soie dont la nature n'a pas été découverte ; ou externes, certainement associés aux déformations locales mises en place lors du filage.

Caractérisation des fils

Mais la soie ne peut pas être uniquement décrite par le comportement mécanique de la fibroïne. En effet, les fils extraits des cocons, ainsi que le fil industriel non décreusé, sont constitués de brins de fibroïne enrobés dans une matrice de séricines. Le grès a un rôle de cohésion, de protection, de contrôle de l'environnement (le grès est hydrophile contrairement à la fibroïne), mais également un rôle mécanique. Cet assemblage procure en effet à la soie un comportement composite. Ainsi, la pente initiale est augmentée de 26%, et la déformation à rupture est augmentée de 42%.

Il est difficile de séparer l'effet de la perte du grès et l'impact des méthodes de décreusage sur les propriétés mécaniques de la fibroïne. Cependant, il est facilement observable que le grès présente un faciès de rupture fragile plutôt caractéristique d'un matériau élastique ou visco-élastique. De plus, sont adhérence avec la fibroïne est relativement faible, avec une contrainte de cisaillement à l'interface à rupture d'environ 145MPa. Il peut être estimé des propriétés mécaniques avec un module initial entre 11 et 17GPa, une contrainte à rupture aux environs de 230MPa et une déformation à rupture minimale de 0,02. On constate donc que ses propriétés sont proches de la fibroïne.

Ceci a pu être montré grâce à l'utilisation de fils industriels de 20-22 deniers. En effet, les fils extraits de cocons ne permettent pas de mettre en exergue l'impact du grès, les variations induites par la variabilité intrinsèque au matériau étant trop importantes. Le fil industriel permet donc de mieux caractériser les propriétés mécaniques de la soie en tant que composite.

Le fil industriel a été considéré comme un standard, il présente une section moyenne de 1590μm^2. Il est composé de 12 à 18 fibres de fibroïne incluses dans une matrice de séricines. La fraction volumique de la matrice est difficilement mesurable par analyse d'image du fait des propriétés proches entre les deux composants, le contraste est alors extrêmement faible. Il en est de même pour les propriétés thermiques. Elle peut cependant être évaluée par la fraction massique, connaissant les valeurs moyennes de densité pour chacun des constituants. Cette fraction volumique se situe donc aux environs de 19-22%.

Le comportement mécanique du composite 'soie' est visco-élasto-plastique. L'évolution des énergies pendant la traction est, semble-t-il, linéaire avec une augmentation de l'élasticité et de la viscosité apportée par le grès.

Un temps caractéristique de la viscosité peut être évalué à environ dix-sept secondes. Cette valeur minimale peut être considérée comme représentative du temps caractéristique de viscosité du volume de matière sous contrainte maximal avant le début de la plasticité. Le seuil de plasticité se situe aux environs d'une contrainte à rupture de 423mN et d'une déformation de 0,02. La plasticité s'assimile à de l'endommagement. Ceci pourrait s'expliquer par la fissuration du grès, mais le grès ne semble pas modifier les valeurs de plasticité. C'est donc bien la plasticité de la fibroïne qui peut être considérée comme de l'endommagement. Deux hypothèses ressortent alors, il y a rupture des liaisons covalentes de la chaine carbonée ou un désenchevêtrement de la phase amorphe justifiant la diminution du module au delà du seuil de plasticité.

Les propriétés mécaniques, et notamment celles à rupture, sont dépendantes de la présence de défauts. Or, il peut être constaté que la densité de fibres n'est pas constante puisque le nombre de fibres varie le long du fil industriel pour maintenir son diamètre moyen. Même si les variations du nombre de fibres sont censées conférer un diamètre constant, on constate une corrélation entre le diamètre du fil et le nombre de fibres. Il y a également l'apparition de porosités.

Il y a donc une variabilité interne pour le fil industriel principalement due au procédé de dévidage.

On peut alors conclure sur l'apport de la mécanique par une schématisation multi-échelle présentée dans la figure 3.34.

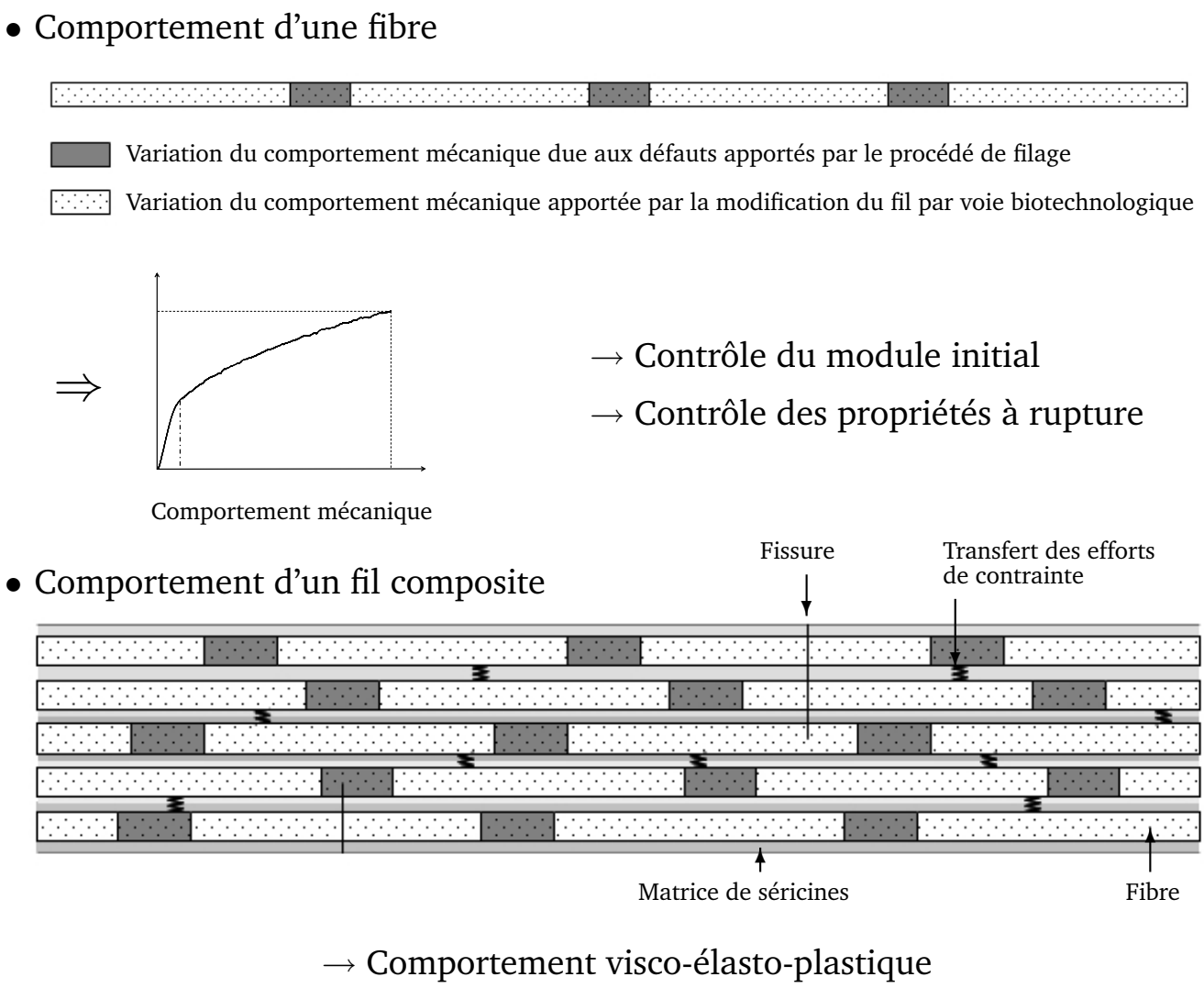


FIG. 3.34 – Schématisation des connaissances apportées par la mécanique

Chapitre 4

La caractérisation microstructurale

Sommaire

4.1 Diffraction aux rayons X **91**
4.1.1 Diffraction aux rayons X sur films 91
4.1.2 Mesures en Wide Angle X-ray Scattering 95
4.2 Spectrométrie Raman **99**
4.2.1 La spectrométrie Raman permet une description de l'état initial 99
4.2.2 La spectrométrie Raman permet une étude sous sollicitation 104
4.3 Mécanique en environnement contrôlé **107**
4.3.1 Humidité 107
4.3.2 Température 108
4.4 Discussion **109**

Afin d'expliquer le comportement mécanique, il faut étudier et comprendre les mécanismes induits à l'échelle microstructurale. C'est de la microstructure que découle les propriétés mécaniques et c'est à cette échelle que les mécanismes justifient le comportement. Il peut donc être étudié les variations entre chaque matériau pour expliquer les différences de propriétés grâce à une caractérisation qualitative et quantitative de la microstructure. Il peut également être étudié les évolutions de microstructure pendant la sollicitation mécanique afin d'analyser plus précisément les mécanismes en cours. Cette étude est basée sur la diffraction aux rayons X et la spectrométrie Raman afin d'apporter des réponses concernant l'impact de la microstructure et analyser ses mécanismes pour expliquer le comportement mécanique.

4.1 La diffraction aux rayons X

La diffraction aux rayons X permet notamment d'observer l'état microstructural du matériau étudié. La matière interagit en effet différemment avec les rayons X selon son arrangement et son orientation. On peut donc en déduire un degré d'organisation et un état microstructural pour chaque échantillon.

4.1.1 Diffraction aux rayons X sur films

La première approche consiste à obtenir une photographie de la microstructure par diffraction aux rayons X et impression sur film. Cette technique permet de visualiser des tâches de diffraction représentatives des plans cristallins présents dans le matériau. L'image recueillie pour le fil industriel est présentée en figure 4.1.

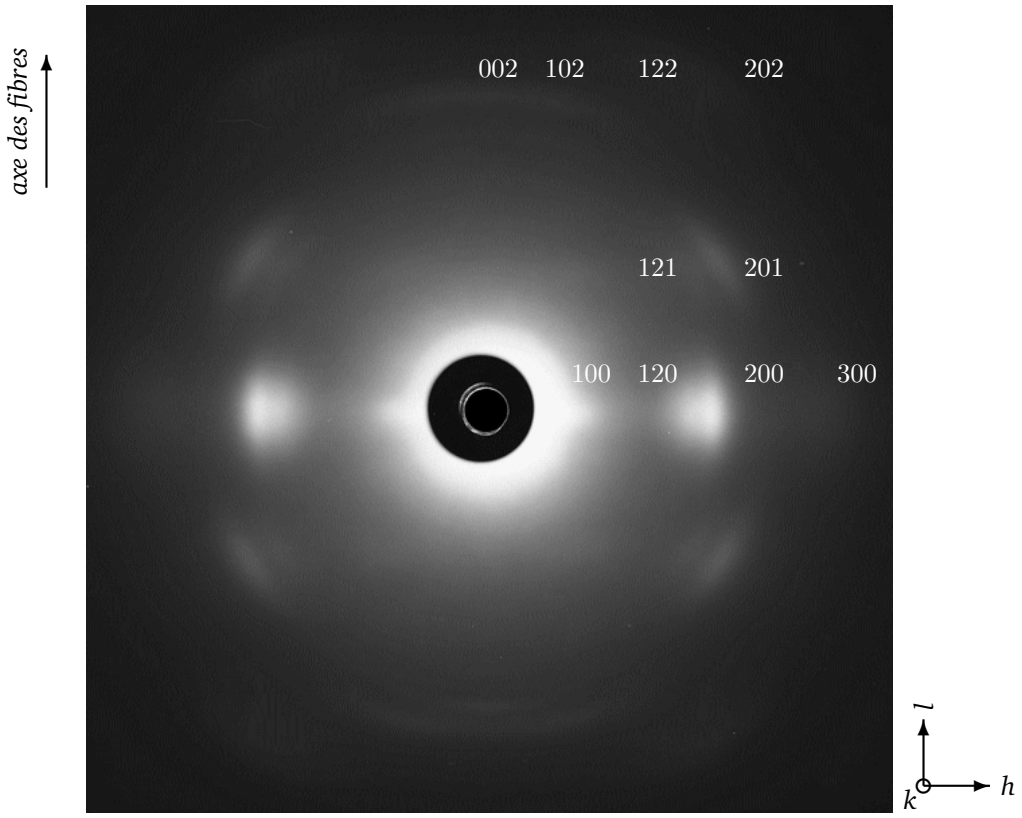


FIG. 4.1 – Diffraction aux rayons X sur film de brins de fibroïne

On peut remarquer que le matériau est clairement anisotrope puisque les plans cristallins sont orientés selon l'angle, noté φ, par rapport à l'axe des fibres. Ici, les fibres sont en position verticales. On constate donc notamment, une réponse importante dans l'axe équatorial ($\varphi = 90°$), perpendiculaire aux fibres. La disposition de ces plans cristallins permet d'imaginer la structure de la maille à l'origine de la diffraction. En l'occurrence, cette disposition peut être décrite par une maille orthorhombique dont un des axes est orienté dans l'axe de la fibre [Alex 69]. Ensuite, grâce à l'angle de diffraction, noté 2θ, qui permet de retrouver les distances inter-atomiques par la formule de Bragg, voir équation 4.1, et la position de la tâche par rapport à l'angle φ, on peut retrouver les indices de chaque plan cristallin. Dans le cadre de l'étude les plans ont été positionnés grâce à la littérature [Warw 54][Drum 05].

$$\lambda = 2.d.sin(\theta) \tag{4.1}$$

Avec λ la longueur d'onde, d la distance inter-atomique, et θ l'angle de diffraction

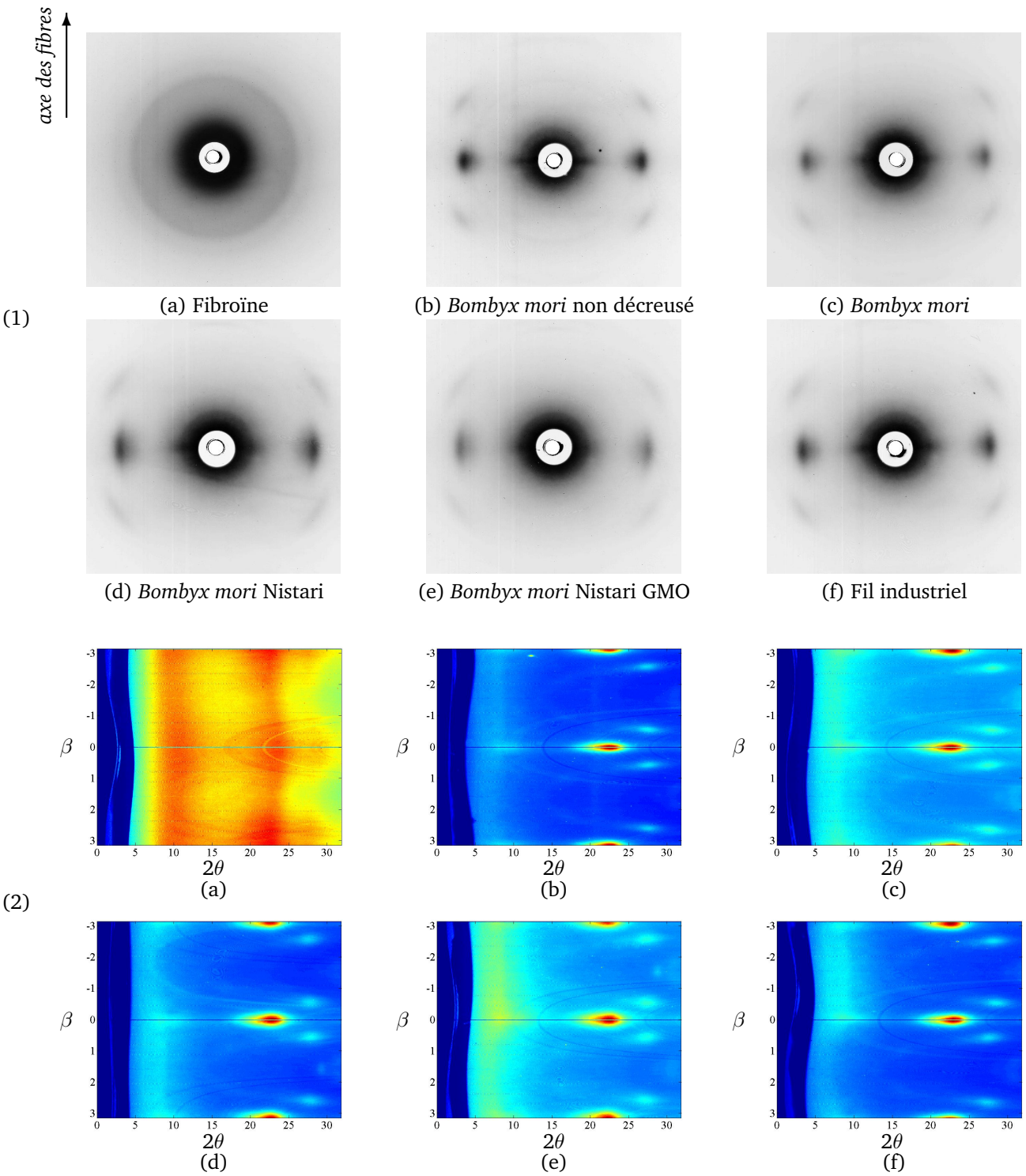
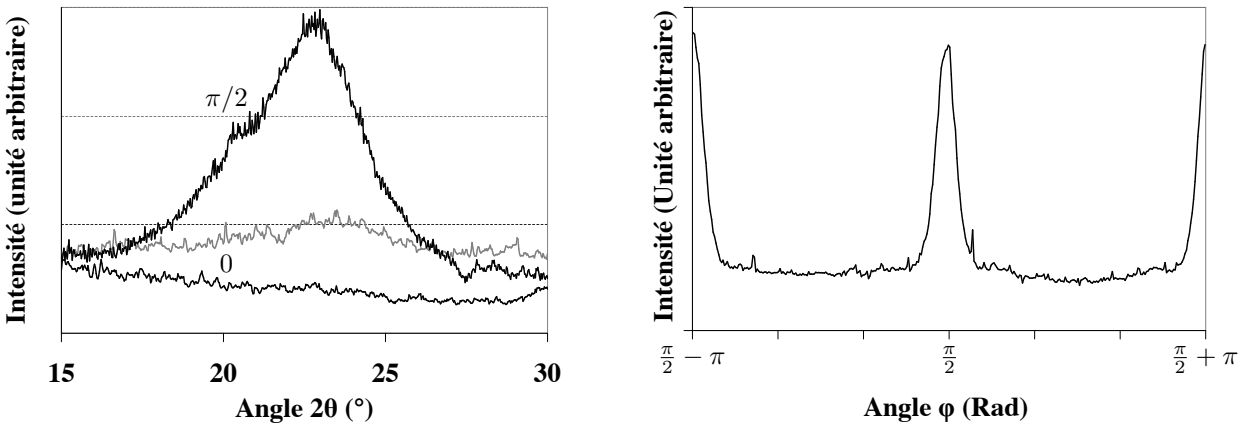


FIG. 4.2 – Observations (1) et résultats (2) en diffraction aux rayons X en deux dimensions :
(a) glande de fibroïne, soie de *Bombyx mori* dévidée (b) et décreusée (c), soie de *Bombyx mori* Nistari décreusée modifiée génétiquement (e) ou non (d), (f) fil industriel standard décreusé, $\beta = \varphi + \frac{\pi}{2}(Rad)$

A partir de ce type de film, un traitement par analyse d'image permet d'obtenir une carte représentant l'intensité de chaque pixel (unité de surface arbitraire) en fonction de l'angle φ et 2θ. Ces résultats sont montrés en figure 4.2. L'utilisation de ce type de résultat est complexe car la résolution n'est pas optimale. Les différents traitements de l'information bruitent fortement le signal, comme on peut le constater sur la figure 4.3(a). Cette figure représente la courbe d'intensité (luminosité du pixel) en fonction de l'angle 2θ pour le fil industriel aux angles $\varphi = 0^\circ$ et $\varphi = 90^\circ$, et pour la fibroïne extraite de la glande avant filage, séchée. On constate que la matière composant la fibroïne non filée diffracte faiblement les rayons X comparé à la fibroïne filée extraite à partir du fil industriel. Ceci confirme l'hypothèse que la cristallisation est induite pendant le filage. La courbe de diffraction de la fibroïne extraite de la glande donne donc une information quant à la réponse en diffraction de la fibroïne constituant la phase amorphe. On observe alors la diffraction permise par les longueurs de cohérence présentes dans le polymère dues à l'aspect macromoléculaire. Cependant, le bruit important inhérent à l'information extraite par cette méthode ne permet par d'obtenir une valeur représentative de distance inter-atomique moyenne de la phase amorphe. Par contre, pour le fil industriel, on constate clairement une anisotropie avec une réponse en diffraction dans l'axe équatorial plus importante que dans l'axe des fibres, notamment pour le plan 200.



(a) (b)

FIG. 4.3 – (a) Extraction d'une courbe d'intensité pour la glande (gris) et le fil industriel (noir) (b) Evolution du pic 200 pour le fil industriel en fonction de l'angle φ

Ce pic représentatif du massif 120/200 peut être suivi en fonction de l'angle φ. Ceci est représenté en figure 4.3(b) par l'évolution du maximum du pic, facteur descriptif de l'intensité, dépendante de l'angle. On observe la périodicité en π de l'intensité. Il est alors possible de calculer le degré d'orientation moyen par rapport à l'axe des fibres, noté $< cos^2(\varphi) >$, par l'équation 4.2.

$$< cos^2(\varphi) >= \frac{\int_0^{\frac{\pi}{2}} I(\varphi).sin(\varphi).cos^2(\varphi).d\varphi}{\int_0^{\frac{\pi}{2}} I(\varphi).sin(\varphi).d\varphi} \tag{4.2}$$

Les valeurs que peut prendre alors le degré d'orientation sont résumées dans le tableau 4.1.

Orientation	Parallèle	Aléatoire ou angle entre 0° et 90°	Perpendiculaire
$< cos^2(\varphi) >$	1	1/3	0

TAB. 4.1 – Degré d'orientation pour différents cas théoriques

Ce degré d'orientation peut être calculé pour tous les angles 2θ, comme présenté dans la figure 4.4. On constate que le pic positionné en 2θ à 22,5° est la partie la plus orientée du diffractogramme. On peut alors comparer ce degré d'orientation entre un fil de soie de *Bombyx mori* et, principalement, la fibroïne extraite de la glande. On constate une absence totale d'orientation pour la fibroïne non filée. Le procédé de filage permet donc bien également une orientation des macromolécules et des cristallites formées. Malheureusement, il est difficile d'évaluer l'incertitude sur la mesure, il semble donc inapproprié de comparer les résultats obtenus entre le fil industriel et le fil extrait d'un cocon.

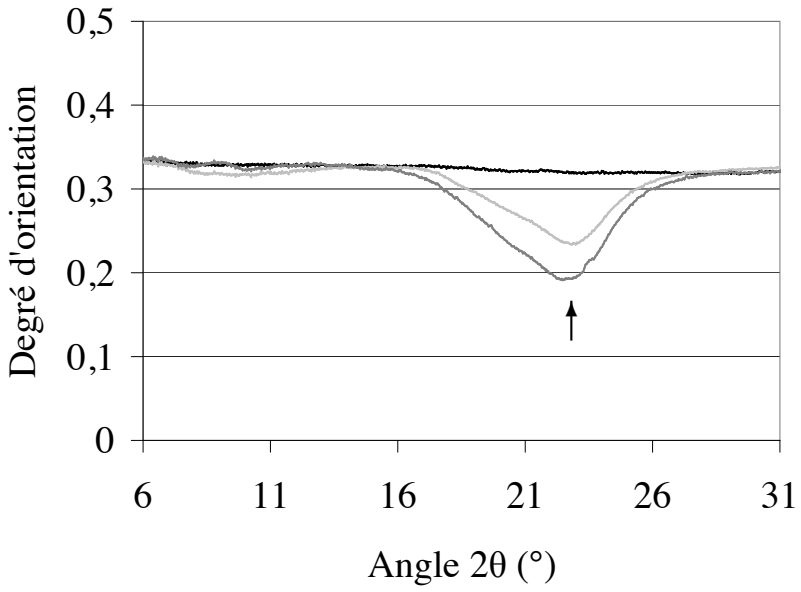


FIG. 4.4 – Evolution du degré d'orientation en fonction de l'angle 2θ pour : la glande séchée de fibroïne (noir), le *Bombyx mori* décreusé (gris clair) et le fil industriel décreusé (gris foncé), flèche : maximum d'orientation

La technique de diffraction des rayons X sur films permet donc d'apporter une première approche sur la microstructure. Le manque de précision de la méthode nécessite cependant l'utilisation d'un goniomètre pour établir une étude quantitative.

4.1.2 Mesures en Wide Angle X-ray Scattering

La méthode de Wide Angle X-ray Scattering (WAXS) permet d'évaluer l'intensité de diffraction d'un matériau en fonction de l'angle 2θ. Pour obtenir une information plus complète, un accessoire peut être utilisé afin d'orienter le matériau précisément. Les diffractogrammes sont alors obtenus pour différentes valeurs d'angle φ depuis 0°, axe des fibres, jusqu'à 110°.

Cas exemple avec le fil industriel

L'ensemble des courbes obtenues pour le fil industriel sont présentées en figure 4.5. La représentation permet donc de suivre l'évolution de l'intensité selon l'angle 2θ ou l'angle φ. On retrouve les mêmes tâches que celles obtenues grâce à la méthode en chambre plane.

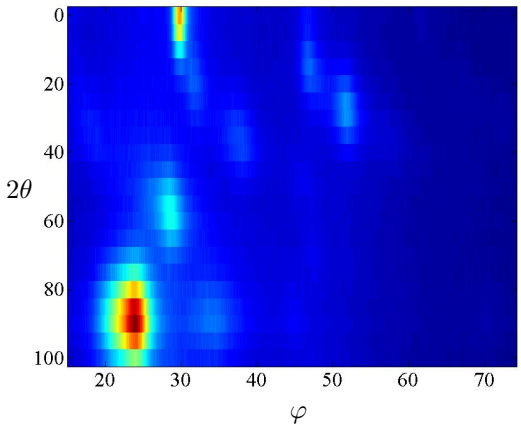


FIG. 4.5 – Carte des résultats obtenus en diffraction aux rayons X par WAXS

Les plans cristallins peuvent être identifiés en utilisant les valeurs des angles en 2θ [Warw 54] [Shen 98]. La correspondance est présentée dans le tableau 4.2. La figure 4.6 représente les courbes obtenues pour différents angles φ et la zone réduite utilisée pour l'analyse par séparation des pics. La numérotation des plans h, k, l proposée a tenue compte d'autres publications [Vall 99] [Drum 05], il faut noter que les fibres sont parallèles à l'axe 'l' du référentiel.

Angle 2θ (°)	d (nm)	($P22_12_1$) [Warw 54]	($P2_1$) [Mars 55]	[Shen 98]	Notation choisie
18	0,57	101, 011			101, 011
22,3	0,46	200	002		200
24,2	0,43	120, 020, 200		020	120
25,4	0,41	201	201		201
28,5	0,36	021, 121, 201		021	121
29,75	0,35	002		002	002
31,6	0,33	102, 012		012, 200	102
34,5	0,30	300	003	030	300
37,5	0,28	202, 122, 022		022, 130	122
38,5	0,27				202

TAB. 4.2 – Correspondance des distances inter-atomiques avec les plans cristallins h, k, l proposés

On observe que la réponse en diffraction est complexe, notamment dû à la largeur des pics. Ceci présage de cristallites de très petite taille et de la possible présence de volumes de matière assimilable à des para-cristaux. En effet, la particularité des polymères macromoléculaires tient en une continuité des molécules au travers des différents volumes de degrés d'ordre propre. Ainsi, phases amorphes et phases cristallines sont reliées par des volumes de transition assimilables à des para-cristaux où la matière présente un ordre non négligeable mais dont la structure cristalline est perturbée par des résidus trop volumineux notamment. Ce phénomène est à mettre en lien avec la composition de la structure primaire et secondaire des protéines de fibroïne. Les segments 'a' de la phase précipitée sont donc vraisemblablement à associer à des structures cristallines ou para-cristallines, les segments 'b' de cette même phase à des structures para-cristallines et la phase soluble à des volumes amorphes.

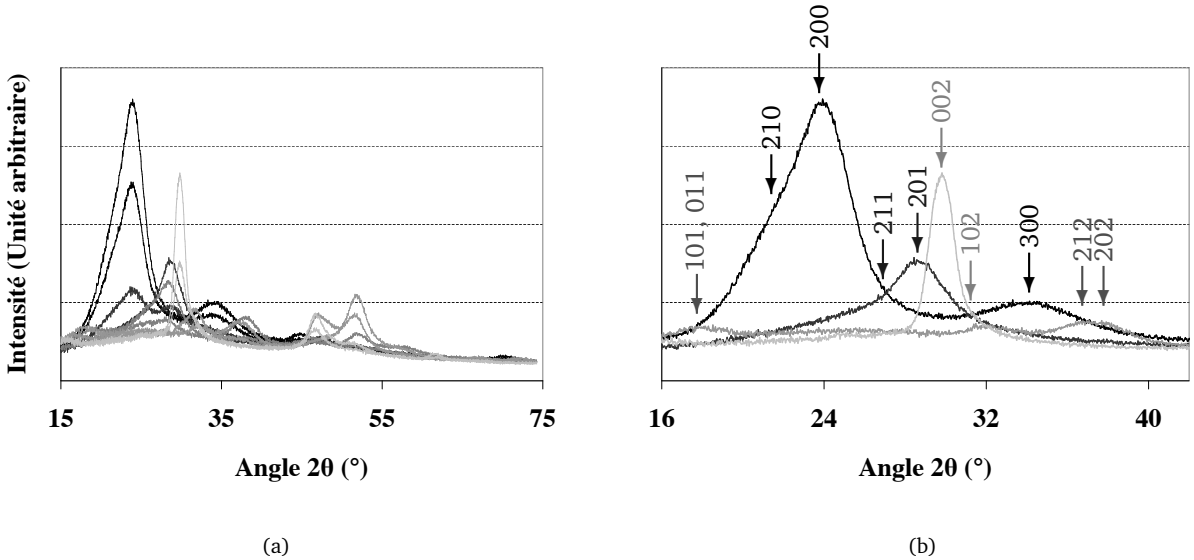


FIG. 4.6 – (a) Résultats obtenus en WAXS pour les angles φ de 0° (gris clair) à 90° (noir) , tous les 10° (b) Zone analysée, avec les plans associés, pour les angles $\varphi = 0°$ (gris clair), 30°, 60° et 90° (noir)

Pour étudier plus en détail l'état de la microstructure, il faut donc séparer les pics de diffraction de chaque plan cristallin pour chaque spectre de diffraction, afin d'obtenir une mesure semi-quantitative. Le principal inconvénient de cette méthode d'analyse réside dans sa complexité et sa subjectivité. Le problème a donc été simplifié afin d'assurer la plus grand objectivité. Premièrement, il a été décidé de réduire la zone d'étude en 2θ car l'analyse de l'ensemble du diffractogramme nécessitait la considération d'un deuxième halo amorphe qui ne pouvait être justifié par ailleurs. La zone a donc été réduite entre 16° et 42° pour l'angle 2θ. Les valeurs obtenues à un angle de 2θ de 72° ont tout de même été exploitée afin de positionner une ligne de base horizontale considérée comme la représentation du bruit.

Ensuite, la zone a été étudiée en considérant un halo amorphe représenté par une distribution statistique gaussienne. Les pics de diffraction peuvent, en effet, être séparés en utilisant des fonctions de type gaussienne ou lorentzienne [Riek 99a] [Du 06] [Asak 01b]. La distribution du type Pearson VII permet d'adapter le type de fonction au pic grâce à un paramètre de forme, noté 'm', permettant d'obtenir une lorentzienne avec m=1, ou une gausienne avec m= ∞. Cependant, la littérature est relativement pauvre quant aux méthodes de séparation des diffractogrammes dans le cas de la soie, on peut voir les différentes fonctions utilisées sans qu'aucun argument d'optimisation ne soit avancé. Il a été choisi dans cette étude d'utiliser une distribution statistique en pseudo-Voigt pour représenter les pics de diffraction. Ce choix se base sur un point de vue empirique de la méthode de séparation.

Enfin, cette méthode reste relativement subjective du fait du grand nombre de variables et donc de degrés de liberté. Ainsi, chaque pic peut être paramétré par trois facteurs : la position en angle 2θ, la largeur à mi-hauteur et la surface du pic. La plus objective des méthodes aurait été de maintenir l'ensemble des pics pour chaque diffractogramme avec tous ses facteurs libres. Cependant, on constate que le résultat obtenu n'est pas satisfaisant. Il a donc été choisi pour chaque angle φ, c'est-à-dire chaque diffractogramme, de supprimer les pics visiblement non présents. Ensuite, il a fallu optimiser une première fois les paramètres grossièrement pour obtenir des valeurs moyennes en angle 2θ. Puis, les plans étant considérés fixes, une deuxième optimisation a été effectuée en fixant l'ensemble des positions en angle 2θ.

Cette méthode de séparation, permet donc de privilégier un optimum d'objectivité au dépend d'un ajustement parfait entre la courbe expérimentale et la courbe estimée. Cette objectivité permet d'assurer une valeur physique au dépouillement en utilisant des plans fixes existants, et représentatifs de la maille considérée dans la littérature. Le résultat obtenue des différentes valeurs d'intensité de diffraction pour chaque plan et chaque angle φ est présenté figure 4.7 pour le cas du fil industriel. On constate une évolution des valeurs d'intensité pour chaque plan en fonction de l'orientation. Ceci permet de calculer des valeurs de degrés d'orientation moyen pour ces plans par rapport à l'axe des fibres. Il est obtenu les résultats présentés dans le tableau 4.3.

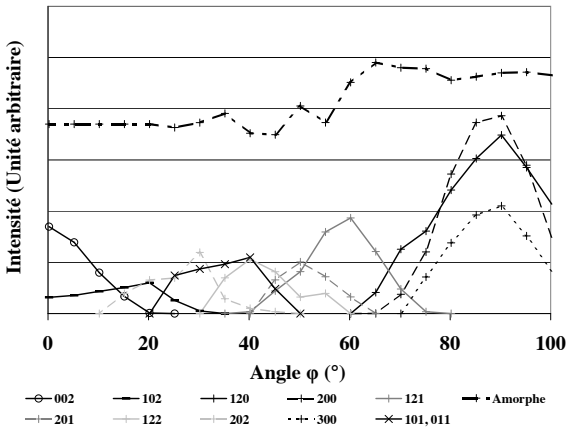


FIG. 4.7 – Résultats obtenus en diffraction aux rayons X par WAXS, cas du fil industriel

Le plan h, k, l 002 est donc pratiquement parfaitement aligné avec les fibres contrairement au plan 200, complètement perpendiculaire. On peut donc conclure que les cristallites sont orientées dans la direction de la fibre. On peut également calculer une taille moyenne apparente des cristallites dans la perpendiculaire aux plans grâce à la formule de Scherrer, voir équation 4.3. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 4.3. La dimension des cristallites peut alors être évaluée dans certaines directions. Les cristallites ont donc une dimension approximative de 6,9nm de longueur et 1,9nm dans la largeur. Il manque un dernier plan simple pour obtenir le profil volumique approximatif complet. L'utilisation des plans complexes pour obtenir la dimension manquante nécessite certaines approximations telles que considérer la structure cristalline comme une homothétie parfaite de la maille cristalline. La formule de Scherrer ne donnant qu'une estimation, il semble présomptueux de développer plus ce type de calculs. On peut donc retenir des dimensions de l'ordre de quelques nanomètres confirmant les informations extraites de la littérature.

$$TAC = \frac{0,9 * \lambda}{FWHM * \frac{\pi}{180} * cos(\frac{2\theta}{2} * \frac{\pi}{180})} \tag{4.3}$$

Avec λ la longueur d'onde, FWHM la largeur à mi-hauteur du pic et 2θ le centre du pic

Plan	101, 011	200	120	201	121	002	102	300	202	122
$< cos^2(\varphi) >$	0,65	0,02	0,03	0,38	0,27	0,97	0,89	0,02	0,77	0,52
$\overline{TAC}$ (nm)	1,7	1,9	2,0	1,9	3,0	6,9	3,7	1,4	1,4	1,4

TAB. 4.3 – Propriétés microstructurales du fil industriel, $\overline{TAC}$: taille apparente moyenne des cristallites

Enfin, un indice de cristallinité peut être calculé en normalisant la somme des aires correspondant aux pics de diffraction des volumes cristallins par l'ensemble de l'aire de diffraction correspondant à la diffraction des volumes cristallins et non cristallins, voir l'équation 4.4. On obtient pour le cas du fil industriel un indice de 0,44. Cette valeur n'est pas un taux de cristallinité puisque l'ensemble du diffractogramme n'a pas été analysé, mais reste dans l'ordre de grandeur de la littérature vis-à-vis de la cristallinité et du taux de feuillets β [Gosl 99] [Lefe 07].

$$I_{crist} = \frac{\sum_{h,k,l} (\sum_{\varphi=0}^{2\pi} (I_{h,k,l}))}{\sum_{\varphi=0}^{2\pi} (I_{totale})} \tag{4.4}$$

Avec I_{crist} l'indice de cristallinité, $I_{h,k,l}$ et I_{totale} respectivement l'intensité de diffraction des plans cristallins et de l'ensemble du polymère, et φ l'angle entre l'axe des fibres et le faisceau incident.

Cas des autres types de soie

Cette méthode d'analyse a été appliquée aux autres types de soie. On obtient les résultats présentés dans le tableau 4.4. Il faut bien considérer ces mesures comme semi-quantitative. C'est-à-dire qu'elles n'ont pas de valeur absolue, elles ne permettent qu'une comparaison entre échantillons. En effet, l'analyse n'a pas été effectuée sur l'ensemble du diffractogramme. De plus, la précision de ce type de technique est discutable connaissant les difficultés d'optimisation, du grand nombre de paramètres et la part subjective indissociable à la méthode de séparation.

	Bombyx mori dévidé	décreusé	race Nistari	race Nistari modifiée
I_{crist}	0,34	0,48	0,38	0,29
Degrés d'orientation 200	0,01	0,01	0,02	0,03
Degrés d'orientation 002	0,98	0,97	0,97	0,97

TAB. 4.4 – Propriétés microstructurales du fil de *Bombyx mori*

Le premier facteur que l'on peut étudier est la présence de grès en comparant les fils de *Bombyx mori* dévidés et décreusés. On observe que la présence de grès diminue l'indice de cristallinité de 29%. Or, il a été mesuré grâce au suivi du procédé de décreusage que le volume de grès est approximativement de 18-22% pour le fil dévidé. Il semble donc que le grès n'apporte pas de volume cristallin puisque le grès semble diluer le volume des cristallites des brins de fibroïne dans un volume d'amorphe. Le grès apparait donc comme un matériau amorphe contrairement à la fibroïne.

Le deuxième facteur est l'influence de la modification génétique sur la microstructure. Pour cela, il faut comparer les races Nistari témoins et modifiées génétiquement. Nous savons que la modification génétique a mené à la production des protéines d'intérêts, la GFP d'une part en fusion avec un peptide extrait du génome de l'araignée *Nephila madagascariensis* d'autre part. On peut donc s'attendre à ce que ces protéines perturbent le système et modifient la microstructure. On peut constater que l'indice de cristallinité diminue de 26% par la modification génétique. Il y a donc un impact non négligeable sur la microstructure. Par contre, les degrés d'orientations des plans h, k, l restent sensiblement identiques avec un alignement quasiment parfait avec l'axe des fibres. Les protéines d'intérêts sont pourtant présentes en très faible quantité, une simple loi des mélanges ne peut donc pas expliquer ces différences comme pour le grès. Ces protéines étrangères influencent donc certainement un paramètre lors du filage qui justifie l'état final. Nous pensons fortement à la viscosité et à l'hydratation, la GFP état notamment une protéine fortement hydrophile. Ceci mène d'ailleurs également à des changements de morphologie et de comportement mécanique.

4.2 La spectrométrie Raman

La modification génétique a mis en évidence que la microstructure a une influence importante sur le comportement mécanique. D'autres techniques permettent d'aborder cette problématique, telle que la spectrométrie Raman. Elle présente notamment l'avantage qu'une machine de traction peut être montée et utilisée *in situ*.

4.2.1 La spectrométrie Raman permet une description de l'état initial

Spectre caractéristique

La figure 4.8 présente un spectre caractéristique de la fibre de soie. On retrouve des zones caractéristiques de fonctions chimiques telles que les liaisons covalentes du carbone, les amides I et III, les groupements méthyl et les amines. On peut constater que la zone entre 2000cm^{-1} et 2500cm^{-1} ne présente pas de modes spécifiques. La zone des plus hautes énergies comprenant le massif des groupements méthyl et les amines est quant à elle sensible, du fait des liaisons hydrogènes, à la présence de l'eau aux environs de 3500cm^{-1} [Colo 08]. Cette partie du spectre ne sera donc pas utilisée dans cette étude. Beaucoup plus riche, la partie des basses énergies présente quant à elle un grand nombre de modes de vibration pour diverses liaisons chimiques. C'est cette partie que nous allons étudier plus en détail.

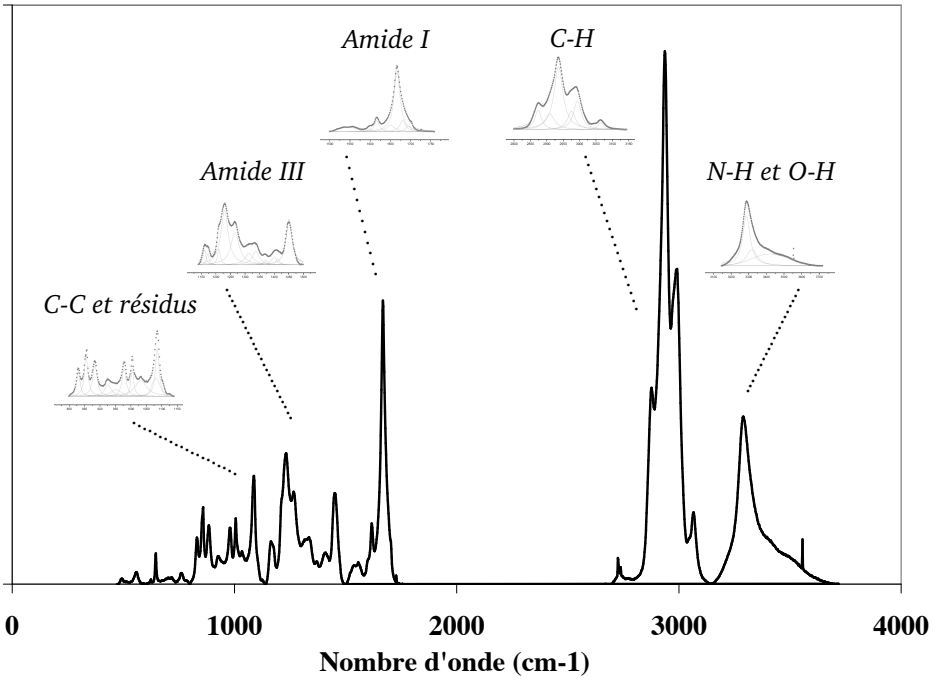
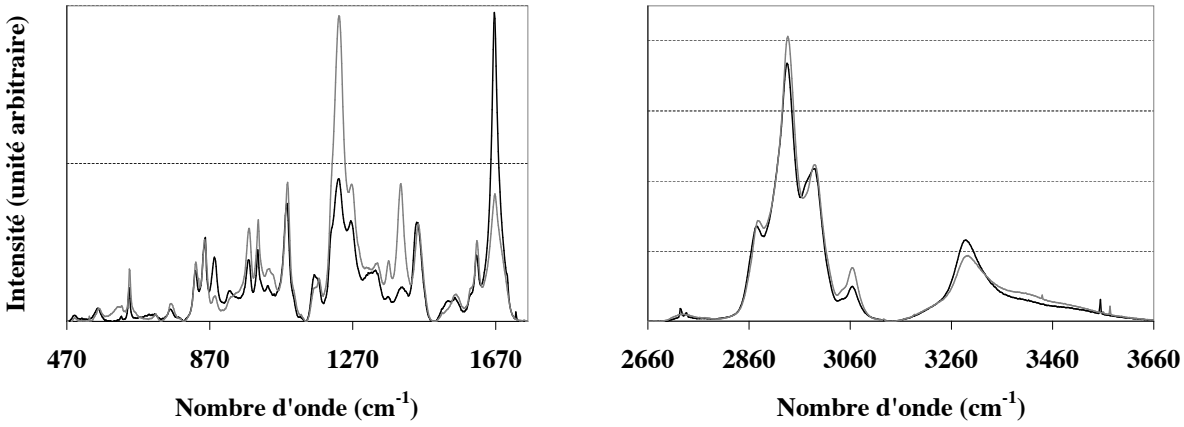


FIG. 4.8 – Spectre Raman normalisé d'un brin de fil industriel, agrandissements sur les différentes zones d'intérêt

Importance de l'orientation

La spectrométrie Raman est basée sur l'impact d'une source LASER sur la matière. Cette lumière étant polarisée, la réponse de la matière est dépendante de la direction de l'objet et de ses symétries. La figure 4.9 présente les spectres que l'on peut obtenir pour un brin de fibroïne dont la direction est parallèle ou perpendiculaire au plan de polarisation de la source LASER. On constate une réponse différente des liaisons chimiques en fonction de cette orientation. Notamment les fonctions chimiques aliphatiques greffées sur le carbone α répondant au nombre d'onde 884cm^{-1} ainsi que le massif des amides I centré autour de 1666cm^{-1} sont favorisés par la direction perpendiculaire. Ces fonctions chimiques sont donc principalement orientées perpendiculairement à la fibre. Par contre, les liaisons amides III centrées en 1233cm^{-1} et les groupements méthyl en 1404cm^{-1} répondent plus en parallèle au plan de polarisation du LASER. On voit donc une orientation des liaisons chimiques en fonction de l'axe de la fibre. Principalement, on constate que les amides I sont orientés perpendiculairement à l'axe de la fibre. Or ces liaisons chimiques sont à la base des liaisons peptidiques. Les macromolécules sont donc clairement en partie alignées dans l'axe de la fibre.

On peut alors calculer un ratio d'intensité entre la position parallèle et perpendiculaire pour les amides I et III pour chaque type de soie. Ces résultats sont représentés graphiquement sur la figure 4.10. La non orientation de



(a) (b)

FIG. 4.9 – Réponse en spectrométrie Raman en fonction de l'orientation perpendiculaire à la polarisation du LASER (noir) ou parallèle (gris)

la glande est confirmée par cette technique puisque amides I et III présentent la même intensité de signal dans les deux directions. Par contre, on constate parfaitement pour les autres types de soie une réponse anisotrope avec les amides I plus de deux fois plus intenses dans l'axe perpendiculaire. L'effet inverse peut être observé pour les amides III. Il est difficile d'établir un calcul précis de l'erreur. Il semble donc hasardeux de comparer les résultats entre les différents types de soie. D'autant plus que les amides I et amides III sont couplées, le mésalignement de l'une peut ainsi impliquer un meilleur alignement de l'autre, il faudrait donc avoir une référence dont l'orientation est connue. Cependant, le fil obtenu par modification génétique semble tout de même avoir un degré d'orientation inférieur comparé au témoin.

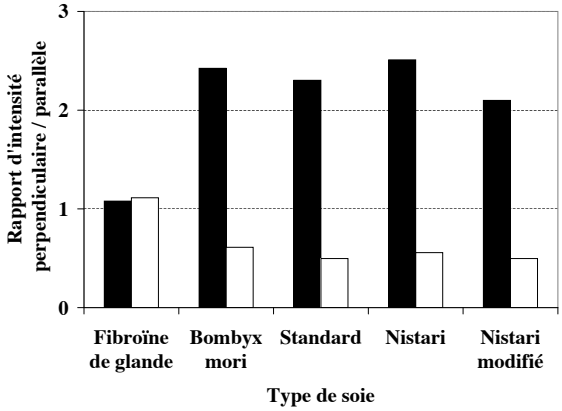


FIG. 4.10 – Rapport entre l'intensité en perpendiculaire et en parallèle du pic des amides vis-à-vis de l'orientation du LASER, pour les amides I (noir) et III (blanc)

Variabilité longitudinale

La micro-spectrométrie Raman, de part sa résolution permet également d'observer la variabilité longitudinale de la fibre de soie. En effet, la source LASER converge, par une optique appropriée, en une tâche de 200-300μm de diamètre. Ainsi, le spectre des basses énergies présenté en figure 4.11 a été mesuré sur différents segments d'une même fibre de soie, voir figure 4.12(a). Sur cette fibre, il peut être observé les variations de structures précédemment décrites avec la partie gauche plutôt orientée et régulière, et la partie droite plutôt déformée. Dans cette expérience, les fibres étaient positionnées perpendiculairement au plan de polarisation du LASER.

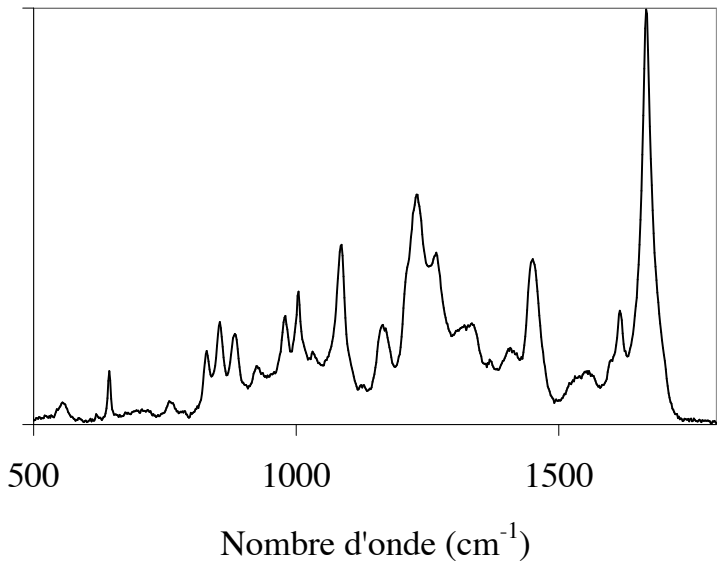


FIG. 4.11 – Spectre Raman d'un brin extrait d'un cocon de *Bombyx mori*

A partir de ces spectres, une analyse en composante principale a été effectuée en considérant les différentes mesures comme associée à un état 'orienté' ou 'non orienté' en fonction de la position de la mesure. Il peut être extrait de cette analyse que la deuxième composante principale permet de séparer ces deux populations comme en témoigne les 'scores' présenté en figure 4.12(b). Les segments considérés comme orientés étant corrélés positivement vis-à-vis de cette composante. On peut alors extraire les 'loadings' qui permettent d'observer quelles variables sont à l'origine de cette séparation, voir figure 4.12(c).

Ce sont principalement les mêmes pics qui sont impliqués dans ces variations : les modes des amides I et III, et les fonctions aliphatiques associées au carbone α. Les modes des amides I sont corrélées négativement avec ceux des amides III, ce qui montre une rotation des liaisons peptidiques sans pour autant témoigner du degré d'orientation de la fibre. On peut constater que la diminution de l'intensité des amides I et corrélée positivement avec les segments considérés comme orientés, alors que le phénomène inverse peut être observé pour les amides III et les fonctions aliphatiques. Il y a donc bien des variations d'angle moyen pour les différentes liaisons chimiques le long de la fibre et dépendant de l'état structural. Les amides I ne semblent pas plus affectées que les amides III comparé à leur valeur d'intensité respective, ce qui pourrait être le témoignage que le degré d'orientation n'est pas significativement affecté, mais ceci ne peut être établi plus précisément.

Afin d'étudier ce phénomène d'un point de vue plus quantitatif, les spectres ont été analysés par séparation des pics comme décrit en figure 4.13. Ceci permet d'obtenir l'intensité des pics représentatifs des fonctions amides considérées comme appartenant à des microstructures en feuillets β ou non [Mont 01] [Preg 07]. Cette hypothèse d'affiliation des pics à une microstructure peut être discutée car les modes internes des amides ne témoignent pas d'interactions électroniques à une large échelle puisqu'ils se limitent aux environs de 0,1nm. Les différents modes observés sont donc bien représentatifs d'organisations différentes mais leur interprétation prête encore à discussion [Jauz 09]. Les hypothèses retenues associent chaque mode à des états microstructuraux de type feuillet-β, hélice-α et amorphe.

On peut constater les mêmes observations que précédemment, les segments considérés comme non orientés présentent un meilleur alignement (+5,5%) des amides I appartenant à des cristallites avec le plan de polarisation de la lumière LASER, perpendiculaire aux fibres. Ceci peut s'expliquer dans le cas où les angles de liaisons imposent qu'un meilleur alignement global de la macromolécule implique un décalage entre l'axe des amides I

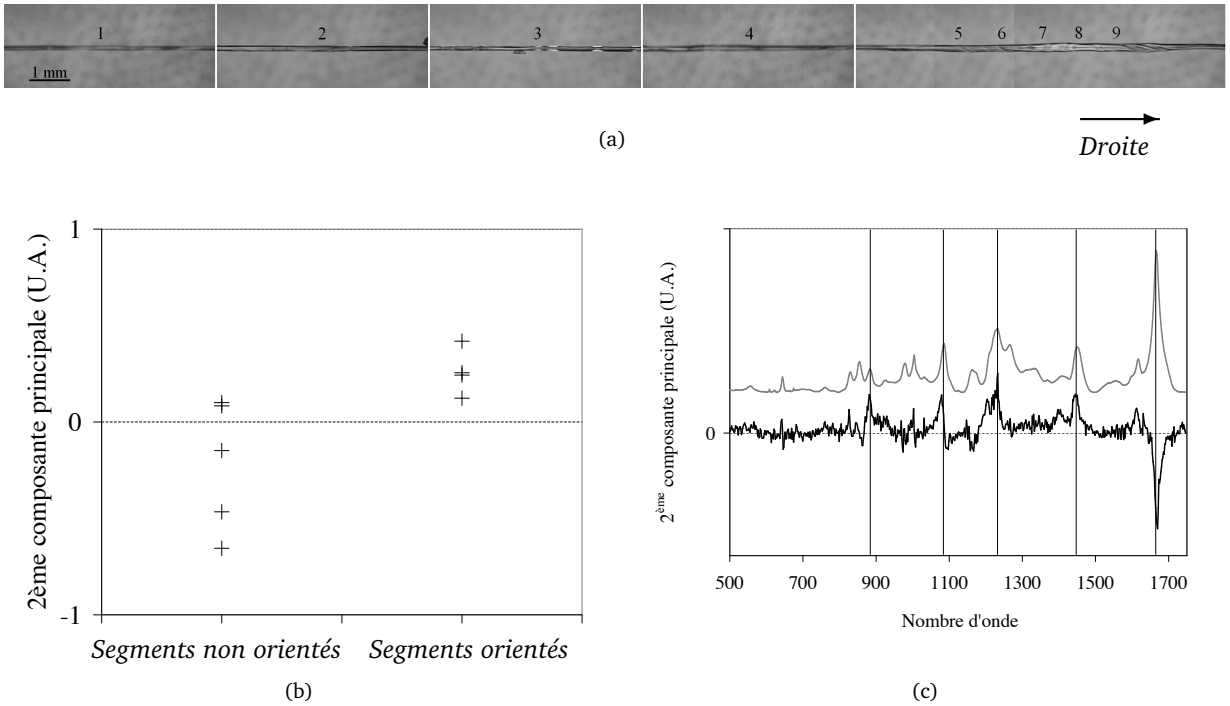


FIG. 4.12 – Variation de la microstructure le long de la fibre : (a) photographie de la fibre et numérotation des zones ; (b) et (c) : résultats de l'ACP respectivement pour les *scores* et les *loadings* avec les spectres 1-4 considérés comme *orientés* et les spectres 5-9 considérés comme *non orientés*, le spectre moyen est présenté en gris

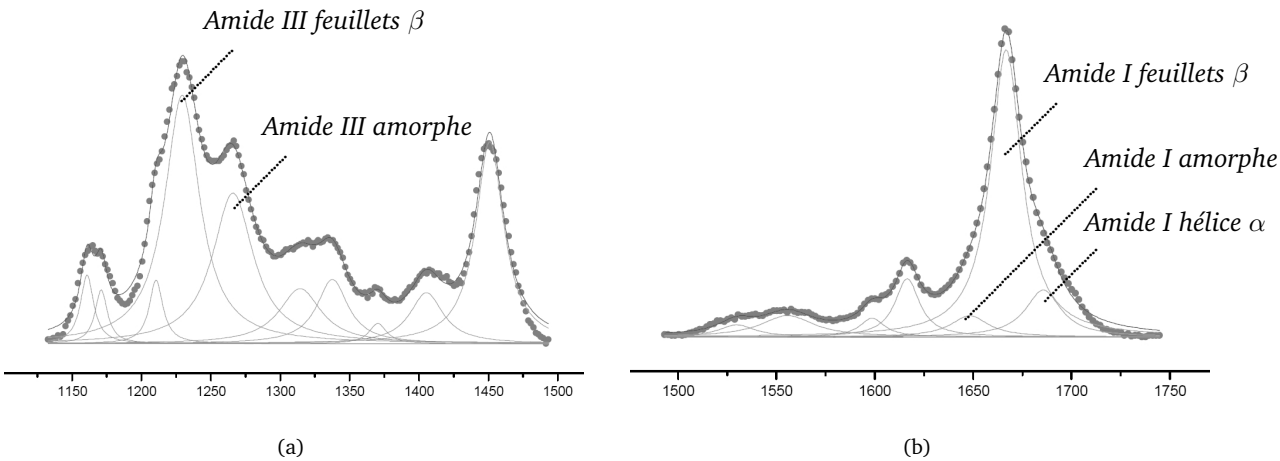


FIG. 4.13 – Séparation des pics relatifs aux amides

et l'axe normal. Une représentation moléculaire dans l'espace permettrait d'observer ce phénomène, les angles de la liaison peptidique étant connus. Mais il n'a pas été possible d'obtenir de telles informations.

Par contre, la spectrométrie Raman ne permet pas de relier l'intensité de la réponse à un volume ou une concentration de matière. Il ne peut donc pas être calculé d'indice de cristallinité à partir de la méthode de séparation.

Le procédé de filage, menant à une variation longitudinale de la fibre avec la présence de défauts, induit donc des variations à l'échelle microstructurale. La matière est donc modifiée dans son organisation, ce qui peut justifier des variations de comportement mécanique locales.

4.2.2 La spectrométrie Raman permet une étude sous sollicitation

Mais la micro-spectrométrie Raman permet surtout une étude *in situ*, avec une traction directement sous la source LASER [Colo 08]. Il faut cependant relativiser ceci puisque la spectrométrie Raman présente le défaut d'observer des évènements rares (diffusion inélastique des photons) et nécessite donc un temps d'exposition long. Les tractions effectuées s'assimilent donc plus à des relaxations successives avec une augmentation progressive de la déformation.

Cette expérience a été effectuée avec les fibres positionnées perpendiculairement au plan de polarisation. Cette limitation est due à l'encombrement de la machine de traction. La zone du spectre considérée s'étale depuis 790 à 1300cm^{-1}, voir figure 4.14. Les différentes fonctions chimiques associées aux pics ont été obtenues à partir de la littérature [Siri 00] [Mont 01] [Mont 05] [Shao 05] [Preg 07]. Tous les pics ne sont donc pas annotés si aucune référence n'en a été faite. On peut également ajouter qu'il aurait été plus juste de positionner un pic aux environs de 1100cm^{-1}, mais il n'était pas possible d'obtenir de courbe ajustée avec ce pic présent. En effet, celui-ci migre systématiquement vers le pic voisin, problème récurrent des pics en forme d'épaulement.

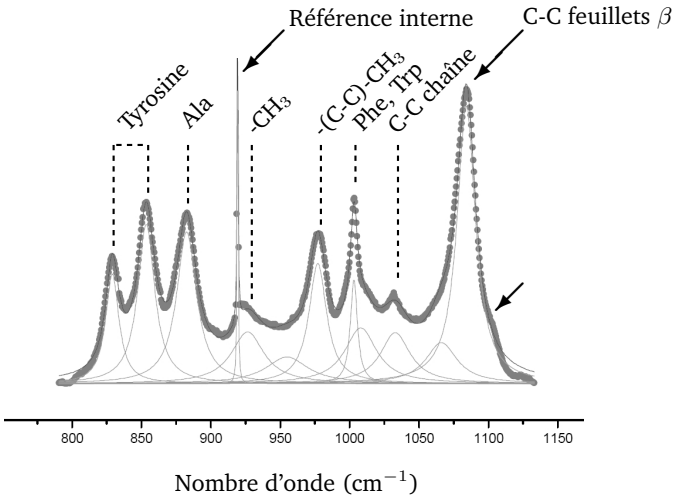
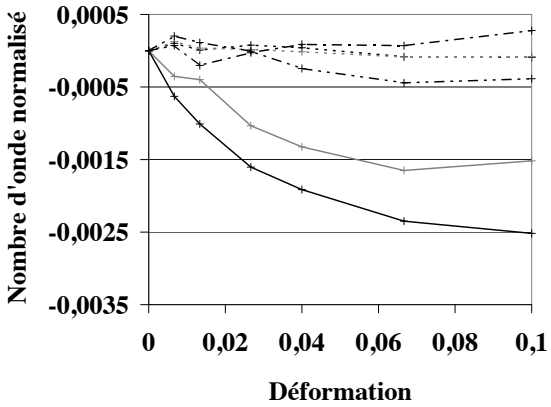


FIG. 4.14 – Zone analysée pour l'étude en spectrométrie Raman avec traction *in situ*

Le déplacement des pics les plus importants a été mesuré par normalisation du nombre d'onde de chacun de ces pics à différentes déformations par rapport à leur position initiale, voir figure 4.15. On peut constater que tous les pics ne répondent pas de manière identique. Ceci peut s'expliquer par l'anharmonicité du potentiel [Colo 02]. Ainsi, selon cette anharmonicité, une même déformation peut mener à une différence de potentiel plus ou moins importante et donc à un décalage en nombre d'onde variable. Si l'on prend l'hypothèse forte que les différentes liaisons covalentes du carbone peuvent être considérées comme ayant une anharmonicité comparable malgré leur appartenance à différentes fonctions chimiques tels que des cycles ou des fonctions aliphatiques. On peut alors constater que tous les pics ne semblent pas sensibles à la déformation. Ceci traduit les déformations locales subies à l'échelle moléculaire selon la liaison chimique.

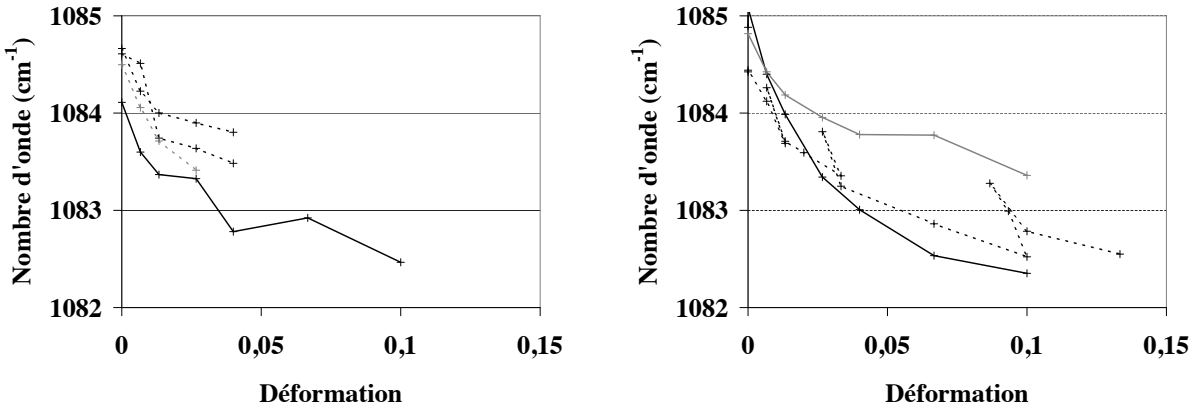
Les liaisons relatives aux résidus des acides aminés tels que la tyrosine, la phénylalanine et le tryptophane ne sont pas sollicitées pendant la traction. Par contre, la chaine carbonée et ses liaisons covalentes sont quant à elle sollicitées. Notamment, le pic représentatif de la liaison carbone-carbone au sein des cristallites servira de jauge de déformation à l'échelle moléculaire. Pour ceci, la distance en nombre d'onde séparant le pic suivi et le pic de référence interne, obtenu par une lampe au néon centré en 920cm^{-1}, est mesurée pour chaque déformation.

Les résultats obtenus pour les différents types de soie extraites de cocons sont présentés en figure 4.16(a). On observe un décalage négatif en nombre d'onde, vers les plus basses énergies. Il y a donc une sollicitation de la liaison chimique pendant la traction [Goua 07]. Cette sollicitation commence dès le début de la traction, elle est premièrement linéaire jusqu'à une déformation de 0,02, puis la pente diminue au delà. Il se dessine donc une limite, semble-t-il élastique, comme à l'échelle macroscopique pour la mécanique.



Figuré	Nombre d'onde	Attribution
- - -	829/854cm^{-1}	Tyr
- · - ·	883cm^{-1}	Ala
- ·· -	1003cm^{-1}	Phe,Trp
——	978cm^{-1}	C-C
——	1085cm^{-1}	C-C feuillets β

FIG. 4.15 – Déplacement normalisé des pics importants de la zone analysée en fonction de la déformation



(a) (b)

FIG. 4.16 – Déplacement en nombre d'onde du pic représentatif de la liaison simple du carbone sous contrainte :
a. pour le *Bombyx mori* (ligne noire), la race Nistari (tirets noirs) et modifiée génétiquement (tirets gris)
b. pour le fil industriel en traction (ligne noire), avec des cycles (tirets noirs) et en milieu humide (ligne grise)

La reproductibilité et la précision de ce type de mesure sont deux facteurs extrêmement complexes à optimiser. Comme on peut le voir sur les deux essais de traction *in situ* de *Bombyx mori*, race Nistari, l'erreur peut être évaluée grossièrement aux environs de 0,5cm^{-1}. La comparaison entre les cocons est donc complexe. Les différences entre des deux races de Nistari, modifiée ou non par voie génétique, ne se dégagent donc pas clairement. On constate uniquement que le *Bombyx mori* traditionnel présente des contraintes internes sous sollicitation plus importantes. Or, il présentait un degré d'organisation supérieur selon la diffraction aux rayons X, au travers de son indice de cristallinité. Le degré d'organisation semble donc corrélé aux contraintes internes à l'échelle microstructural pendant une sollicitation.

Le cas du fil industriel a été étudié plus en détail, voir figure 4.16(b). Des essais de traction avec et sans cycles ont été effectués. On constate que la limite à une déformation de 0,02 est bien une limite élastique également à l'échelle microstructurale puisque les déplacements en nombre d'onde sont réversibles. Au delà de la limite élastique, une déformation plastique apparait, elle témoigne donc de contraintes locales résiduelles. Ces essais confirment donc les observations en diffraction aux rayons X décrites dans la littérature [Kras 08] et plus récemment en spectrométrie Raman [Lefe 09]. La preuve de la réversibilité des déplacements en nombre d'onde dans la phase élastique a en plus été prouvée.

Il y a donc un effet plastique de la phase amorphe menant à des contraintes résiduelles au sein la phase cristalline. Cette plasticité mène d'ailleurs à un changement d'orientation des chaines macromoléculaires de cette même phase, ceci de manière réversible [Lefe 09]. Il existe donc des phénomènes complexes reliant les différentes phases permettant une mobilité moléculaire associant un transfert des contraintes dès le début de la traction, phénomène plutôt représentatif d'un système en parallèle.

La suite des événements consécutifs à une traction seraient donc :
- une déformation élastique de la phase amorphe et cristalline menant à une réorientation des cristallites
- puis une plasticité de la phase amorphe et vraisemblablement cristalline
- en cas de décharge, le retour élastique de la phase amorphe mène au retour initial de l'orientation des cristallites

Ceci prouve le lien étroit entre les deux types de phase, argument cohérent avec l'aspect macromoléculaire de longues protéines pouvant être considérées comme des réseaux liés de phases amorphes et phases cristallines, celles-ci pouvant mettre en place des liaisons faibles supplémentaires intermoléculaires.

Afin d'étudier séparément les phases, des essais en humidité relative élevée (approximativement 100%RH) ont été effectués. Ils sont supposés n'affecter que la phase amorphe puisque l'accès aux phases cristallines est limité connaissant la densité locale. Or, l'eau a un effet important sur les liaisons faibles qui régissent principalement les réseaux macromoléculaires protéiques. Il est donc attendu une désorganisation de la phase amorphe, provoquant un comportement différent de la phase cristalline.

On peut constater que l'environnement humide provoque une diminution importante des déplacements en nombre d'onde. Les contraintes locales sont donc fortement diminuées. Il y a donc bien une désorganisation de la phase amorphe provoquant une dissipation énergétique plus importante. Ce phénomène semble principalement s'exprimer pendant la phase de plasticité.

Enfin, on peut constater une corrélation entre les déplacements en nombre d'onde et donc les déformations et contraintes locales avec la contrainte globale de la fibre, voir figure 4.17. Ceci témoigne bien des propriétés élastiques des liaisons chimiques. La régression linéaire permet donc d'élaborer un étalonnage pour des mesures de microextensométrie. Cependant, le réseau étant partiellement en parallèle, la contrainte globale ne peut être égale à la contrainte locale. Il faudrait donc pouvoir évaluer le coefficient de corrélation entre l'échelle nanoscopique et l'échelle macroscopique.

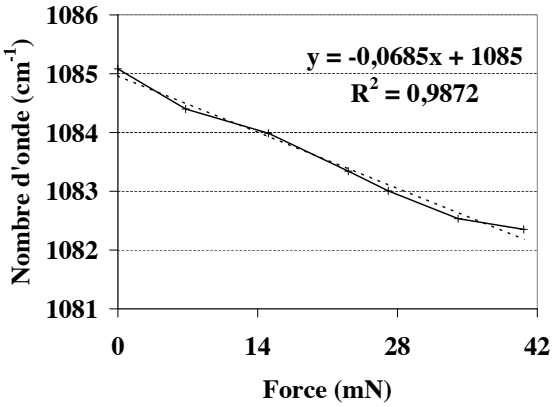


FIG. 4.17 – Représentation graphique du déplacement en nombre d'onde en fonction de la contrainte globale, cas du fil industriel avec sa régression linéaire associée

4.3 Mécanique en environnement contrôlé

4.3.1 Humidité

Pour approfondir les observations en spectrométrie Raman sur le comportement de la phase amorphe en présence d'eau, de nouveaux essais en humidité ont été effectués sur fil industriel décreusé, assemblage en parallèle de fibres. On peut observer un comportement mécanique très différent en condition humide, voir figure 4.18. La pente initiale ainsi que la ténacité sont fortement diminués (perte de 70% de la pente initiale). Le processus de rupture ne semble pas contre pas altéré.

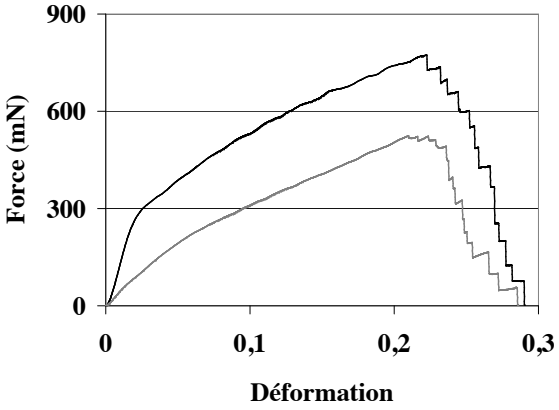


FIG. 4.18 – Courbes de traction de fils industriels décreusés à 50%RH (noir) et 100%RH (gris)

Si l'on considère une section moyenne pour le fil industriel décreusé de 1272μm^2 (soit 20% de la section du fil industriel), sans prendre en compte le phénomène de gonflement normalement faible pour la soie de *Bombyx mori*, le module moyen en humidité est alors calculé à 3,5±0,1GPa.

Dans le cas d'essais mécaniques complexes, les résultats sont difficilement interprétables, voir figure 4.19. En effet, l'eau perturbe l'ensemble du système et toutes les énergies sont modifiées. Cependant, on peut tout de même constater que l'élasticité et la viscosité sont principalement dégradées pendant la phase élastique, la plasticité quant à elle diminue également de moitié environ.

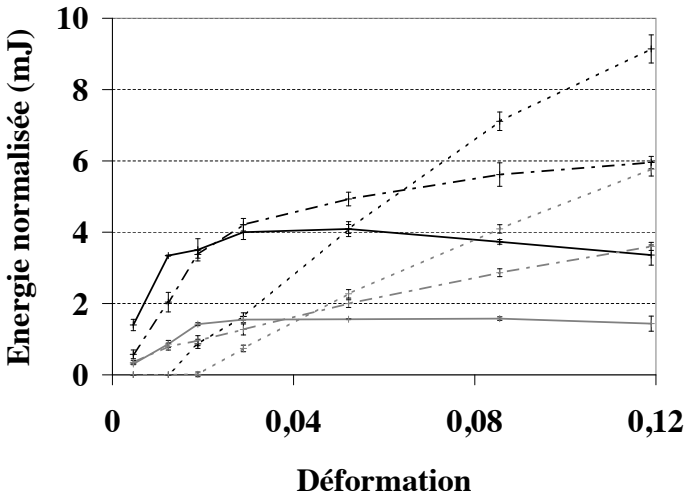


FIG. 4.19 – Evolution des énergies (élasticité : ligne, viscosité : traits pointés, plasticité : pointillés) pendant une traction monotone à 50%RH (noir) et 100%RH (gris)

Si l'on garde le postulat que seule la phase amorphe est modifiée par l'eau, ceci prouve que le comportement de la phase amorphe est visco-élasto-plastique. Il y a donc bien une plasticité apportée par la phase amorphe. Celle-ci peut se caractériser par un désenchevêtrement des macromolécules qui acquièrent alors une nouvelle conformation après décharge sans pour autant avoir perdu de liaisons covalentes, ce phénomène se rapproche alors d'une dénaturation protéique. Le désenchevêtrement pourrait également expliquer en partie la diminution du module lors de la plasticité par un phénomène de frottement moléculaire.

4.3.2 Température

En utilisant un instrument de Dynamic Mechanical Thermal Analysis, il a été possible de faire des essais complexes en température. Cependant, ces essais sont incomplets car des limitations instrumentales ne permettent pas de contrôler les décharges. La variation du module initial en fonction de la température peut tout de même être exploitée pour le fil industriel. Ces résultats sont présentés en figure 4.20.

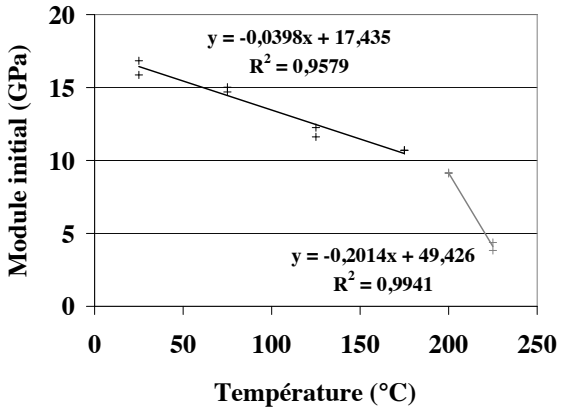


FIG. 4.20 – Evolution du module initial du fil industriel en fonction de la température, régression linéaire des points avant T_g (noir) et après T_g (gris)

On observe une décroissance du module initial en fonction de la température avec un changement de pente aux environs de 175-200°C. Ce changement est représentatif de la transition vitreuse, ce qui est cohérent avec les informations bibliographiques [Hu 07]. Les propriétés mécaniques sont donc dépendantes de la température comme montré dans la littérature [Mart 07]. L'agitation moléculaire menant à une plus grande dissipation énergétique.

La similitude entre les modules obtenus en température à 220°C et en humidité saturante montre que l'eau agit en tant que plastifiant. Les modifications microstructurales apportées par l'humidité sont donc comparables à un état de la matière au dessus de la température de transition vitreuse. Cette température de transition vitreuse est alors inférieure à la température ambiante [Agar 97] [Fu 09].

4.4 Discussion sur l'apport de la microstructure

L'étude de la microstructure a donc permis de mieux comprendre la relation entre microstructure et mécanique. L'impact de la méthode de filage sera décrit sur l'état microstructural du polymère. Puis, le comportement de cette microstructure établie sera étudié en fonction des sollicitations mécaniques et du milieu extérieur pour établir un lien entre microstructure et mécanique. Enfin, notre capacité à modifier les propriétés mécaniques du matériau par voie biotechnologique sera analysée d'un point de vue microstructural.

Modification microstructurale du polymère pendant le procédé de filage

La fibroïne produite par les glandes séricigènes est stockée dans un état amorphe dans la glande moyenne. Sa microstructure est alors contrôlée par les conditions chimiques : présence de solvant ; d'ions kosmotropiques et chaotropiques ; pH... Le procédé de filage va mener à une organisation de la matière augmentant l'interaction entre les différents composés, chaine lourde et chaine légère de fibroïne, facteur P25. Il va également y avoir une augmentation de la masse volumique par cristallisation partielle du polymère menant à l'apparition de cristallites, de maille *a priori* orthorhombique, orientés dans le sens de la fibre. Les macromolécules sont donc orientées principalement dans l'axe des fibres, elles permettent de lier les phases amorphes et cristallines par des liaisons covalentes mais également faibles grâce à des interactions intra et extra-moléculaires. Le procédé de filage est un facteur important expliquant cet état microstructural. Des variations longitudinales sont perceptibles a l'échelle microstructurale avec une variation de cristallinité et d'orientation des cristallites. Ces variations sont à mettre en relation avec les variations macroscopiques induites par la méthode de filage.

Il en résulte un matériau semi-cristallin ayant une température de transition vitreuse aux environs de 180°C, sa microstructure est schématisée en figure 4.21.

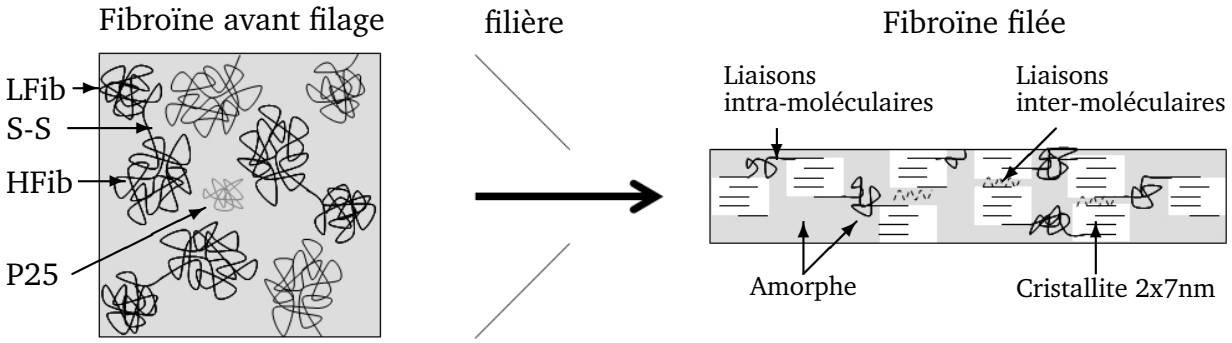


FIG. 4.21 – Etat microstructural de la fibroïne avant et après filage, LFib et HFib : respectivement chaine légère et chaine lourde de fibroïne

Il peut être noté que la microstructure du grès semble bel et bien amorphe ce qui ne l'empêche pas d'avoir un impact non négligeable sur le comportement mécanique.

Comportement microstructural de la fibre de soie sous sollicitation

Cet état microstructural permet d'expliquer le comportement mécanique. En effet, une déformation à l'échelle macroscopique induit des déformations à l'échelle nanométrique. Notamment, les résidus ne sont pas sollicités pendant la traction, contrairement à la chaine macromoléculaire composée de carbones α associés à ces résidus et de fonctions amides. La traction du polymère mène à une déformation des liaisons chimiques de la phase cristalline dès le début de la traction, ce qui est représentatif d'un système en parallèle. Les cristallites vont également être réorientés vers une position certainement optimale. Le comportement de la phase amorphe peut être assimilé à un comportement visco-élasto-plastique. Le comportement de la phase cristalline semble quant à lui se limiter à de la pure élasto-plasticité [Kras 08]. Les mécanismes induits à l'échelle microstructurale pendant une sollicitation sont décrits en figure 4.22.

Ceci permet d'expliquer le comportement de la soie en milieu humide où la phase amorphe est désorganisée induisant une dissipation énergétique importante menant à une déformation réduite des cristallites. Notamment, cette désorganisation permettant un degré de liberté supérieur des macromolécules dans ce volume, semble permettre un désenchevêtrement sans frottement justifiant la diminution de la plasticité.

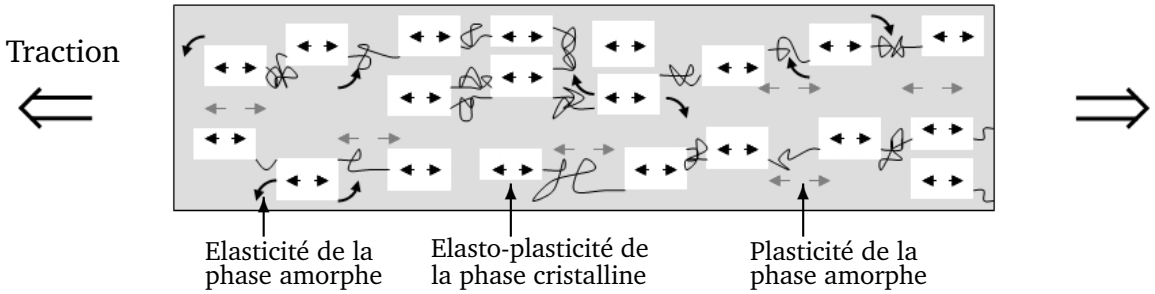


FIG. 4.22 – Mécanismes microstructuraux induits lors d'une traction d'une fibre de fibroïne

Impact de la modification génétique sur la microstructure, lien avec le comportement mécanique

L'étude du lien entre microstructure et mécanique permet donc d'expliquer l'apport de la modification génétique permettant un contrôle du comportement mécanique. En effet, cette modification a résulté en un matériau moins cristallin (74% du témoin) et semble-t-il légèrement moins orienté. Les propriétés du gel de fibroïne sont donc modifiées altérant principalement le taux de cristallinité. L'orientation est quasiment inchangée car principalement induite par le passage de la filière.

Cette modification microstructurale résulte en une modification de comportement mécanique vers un matériau plus ductile et plus déformable. Ceci s'explique par le fait que la phase amorphe est supposée présenter un module initial inférieur à la phase cristalline et permettre une déformabilité supérieur.

Pour confirmer ces hypothèses, un modèle a été proposé est sera discuté dans le chapitre 5.

Chapitre 5

La modélisation permet de vérifier les hypothèses sur la microstructure

Sommaire

5.1 La mise en place du modèle **113**
5.1.1 Connaissances apportées par l'étude de la mécanique et de la microstructure 113
5.1.2 Choix du modèle 113
5.1.3 Les paramètres expérimentaux 114
5.2 Identification des paramètres **115**
5.2.1 La recherche des paramètres 115
5.2.2 La validation 118
5.2.3 Les résultats sur essais complexes 120
5.3 Essais en humidité **121**
5.3.1 Identification des paramètres 121
5.3.2 La validation 122
5.3.3 Exploitation des résultats 122
5.4 Discussion **123**

A partir des connaissances sur la microstructure et le comportement mécanique de la soie, un modèle a été développé permettant de représenter de manière simplifiée le comportement du matériau. Pour répondre à cette problématique, le modèle doit rester cohérent avec l'état microstructural, en limitant le nombre de paramètres pour avoir une robustesse suffisante afin de décrire différents types d'essais mécaniques. Pour cela, un modèle développé en interne a été adapté et exploité. Les résultats permettent de valider partiellement certaines hypothèses, d'enrichir la réflexion de nouvelles interrogations et d'apporter une vue simplifiée à des modifications complexes induites par un environnement tel que l'humidité saturante. La modélisation permet donc de témoigner de facteurs importants sans les corréler directement à des phénomènes microscopiques mais en confortant les hypothèses et en élargissement le cadre de travail.

5.1 La mise en place du modèle

Le modèle qui a été développé répond à une représentation mathématique du comportement en axant sa conception sur les aspects physiques et microstructuraux. Le modèle est ici décrit ainsi que la méthode menant à l'identification des paramètres. L'ajustement des paramètres étant relativement subjectif, la méthode s'est voulue la plus encadrée possible. La validation a été effectuée sur divers essais indépendants justifiant la pertinence des valeurs obtenues.

5.1.1 Connaissances apportées par l'étude de la mécanique et de la microstructure

L'étude du comportement mécanique et de la microstructure a montré que la soie pouvait être considérée comme un semi-cristallin avec un comportement visco-élasto-plastique. Sa microstructure est basée sur deux types de phases, l'une cristalline, organisée et orientée, et l'autre amorphe. Ces phases sont reliées entre elles par des liaisons covalentes au sein d'une même macromolécule et des liaisons faibles, notamment hydrogènes, de manière intra- et inter-moléculaire. On peut donc considérer cette organisation comme un réseau de macromolécules reliant des phases cristallines et amorphes. Ceci induit une relation proche entre chaque phase et une organisation qui doit s'exprimer majoritairement soit en parallèle soit en série. La représentation communément admise pour les semi-cristallins est basée sur les propositions de Peterlin, Prevorsek et Schultz, voir les références dans les ouvrages cités [Marc 06] [Hala 08]. Les semi-cristallins tels que les polyamides sont alors considérés comme organisés en microfibrilles parallèles, séparées par de la phase amorphe orientée. Chaque microfibrille est constituée d'un agencement en série de cristallites et de phase amorphe non orientée. D'un point de vue macroscopique, c'est l'ajustement en série qui apparait prédominant.

Dans le cas de la soie, l'organisation semble plus représentative d'un système en parallèle. Ceci est permis par la petite taille des cristallites, 6x2nm, et la largeur importante des microfibrilles, de 100 à 200nm. Cependant, une même macromolécule apparait plus comme une succession de cristallites et de phase amorphe en série, ce sont donc certainement ses interactions avec d'autres macromoléculaires qui justifient l'importance de l'agencement en parallèle à l'échelle macroscopique.

Le modèle a donc été basé sur un système en parallèle avec des branches définissant des comportements distincts pouvant s'assimiler au comportement des différentes phases.

D'un point de vue mécanique, il faut traduire l'ensemble du comportement en apportant de l'élasticité, de la viscosité et de la plasticité. La recherche d'un modèle s'est orienté vers la convergence des ces deux hypothèses : un comportement visco-élasto-plastique ajusté à une organisation en parallèle.

5.1.2 Choix du modèle

Un modèle traduisant les micro-mécanismes de semi-cristallins implémenté dans le code de calcul Zébulon répond à ces exigences. Il en a donc été extrait un modèle à deux parties disposées en parallèles, avec d'une part une branche élasto-plastique, et d'autre part un modèle de Maxwell généralisé. Dans un souci de simplification du modèle, afin de limiter le nombre de degrés de liberté, et d'améliorer la robustesse, le modèle de Maxwell généralisé a été limité à une branche visco-élastique. L'ensemble du modèle est présenté en figure 5.1 en représentation analogique. Les lois d'état et lois d'évolution sont décrites en détail dans les travaux de Detrez, 2008 [Detr 08].

En représentation analogique, le modèle comprend deux ressorts, un piston et un patin. Ce modèle se rapproche donc du modèle proposé par Krasnov auquel il a été ajouté un patin de plasticité [Kras 08]. En se basant sur cette littérature, une première hypothèse peut être établie : le système met en parallèle une branche visco-élastique représentant la phase amorphe, et une branche élasto-plastique représentant un assemblage de cristallites et de phase amorphe disposés en série. L'utilisation d'un modèle de Maxwell revient à considérer la viscosité comme linéaire même si ce n'est pas le cas ici puisque la vitesse de relaxation est dépendante de la déformation. La plasticité a été jugée linéaire, ce qui permet également de réduire le nombre de paramètres. Finalement, le modèle reste relativement simple en se limitant à cinq paramètres.

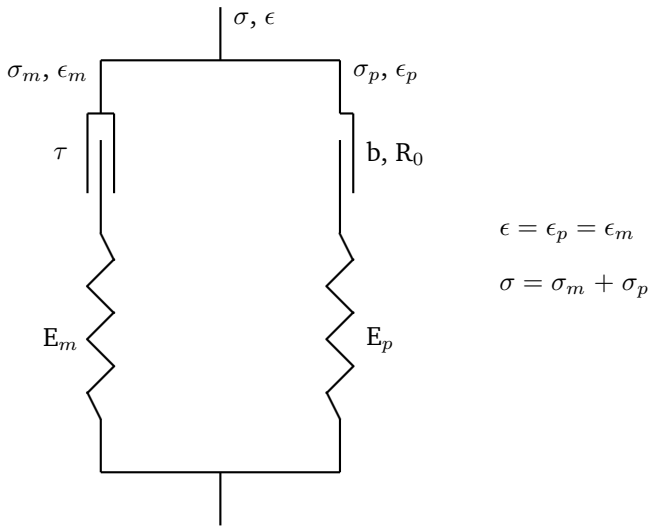


FIG. 5.1 – Représentation analogique du modèle choisi. Paramètres : E_m et τ respectivement module initial et la constante de temps caractéristique du modèle de Maxwell ; E_p, b et R_0 respectivement module initial, pente et seuil de plasticité de la branche élasto-plastique

5.1.3 Les paramètres expérimentaux

La modélisation s'est limitée au cas le plus simple de brins de fibroïne assemblés en parallèle, ce qui s'assimile au fil industriel décreusé. Se pose alors le problème des valeurs en contrainte puisque la section d'un tel fil n'est pas connue précisément. Le fil industriel a été considéré comme composé de 20% de volume de séricine, ce qui permet de calculer la section du fil industriel décreusé à 1272μm^2, soit un module initial de 13,4GPa. Cependant, cette valeur de module, de même que les valeurs de limite d'élasticité et pente de plasticité, ne peuvent être directement introduites dans le modèle car la contrainte de la branche élasto-plastique n'est pas égale à la contrainte globale. Il faut donc effectuer un ajustement manuel par les résultats du calcul. Ces données sont néanmoins intéressantes car elles fournissent un ordre de grandeur et un maximum puisque la contrainte globale est forcément supérieure à la contrainte de chaque branche.

5.2 Identification des paramètres

5.2.1 La recherche des paramètres

La démarche pour trouver les paramètres permettant d'ajuster le résultat du calcul aux essais est complexe par le nombre de paramètres et leurs interactions. Ceci s'accompagne du fait que le traitement du résultat est jugé uniquement par subjectivité, il n'y a pas de calcul d'erreur qui pourrait servir de variable de sortie. Le processus utilisé doit donc être rigoureux et parfaitement décrit.

Il a été choisi d'ajuster en premier lieu les variables relatives à la branche élasto-plastique (E_p, b et R_0). En effet, ces variables deviennent ajustables aux temps longs (~1000 secondes) au regards des temps caractéristiques de la soie (expérimentalement d'environ 20 secondes), contrairement aux variables du modèle de Maxwell (E_m et τ). Pour cela, le modèle de Maxwell a premièrement été supprimé, et les résultats du calcul comparés aux essais de relaxation. La rigidité du ressort a ainsi été calculée pour s'ajuster sur l'essai sans plasticité, dont la déformation n'a pas dépassé 0,02, voir la figure 5.3. Plus exactement, c'est la partie tendant vers un temps 'infini' (ici 1000 secondes) qui a été ajustée. En effet, le piston est alors supposé complètement relâché et donc la contrainte uniquement apportée par la branche élasto-plastique. La valeur pour le module initial du ressort de la partie élasto-plastique est ainsi évaluée à 11GPa. Une fois ce paramètre obtenu, les variables de plasticité ont été calculées pour un ajustement optimal des autres essais de relaxation, voir figure 5.4. Notamment, le seuil de plasticité a été obtenu en projetant le seuil apparent des essais sur la droite représentant l'élasticité, droite dont la pente est le module élastique E_p. La limite de l'élasticité est placée à une déformation de 0,013, ce qui est inférieur à la valeur obtenue expérimentalement de 0,02. La pente de plasticité a été obtenue en essayant de satisfaire au mieux l'ensemble des essais à différentes déformations. On constate déjà une certaine difficulté à ajuster la pente de plasticité sur l'ensemble des essais. Les valeurs obtenues des paramètres de seuil et de pente de plasticité sont respectivement 150MPa et 3GPa.

Ensuite, le modèle de Maxwell est ajouté en parallèle à la branche élasto-plastique, ce qui permet d'ajouter une contrainte supplémentaire à chaque déformation. En effet, le système ainsi construit applique une déformation égale aux deux branches, mais la contrainte globale est égale à la somme des contraintes de chaque branche. Il peut alors être optimisé les paramètres de viscosité. Les paramètres du modèle de Maxwell sont dépendants l'un de l'autre. Mais si l'un est fixé, l'autre est corrélé linéairement avec la différence de contrainte pendant la relaxation. C'est donc ce paramètre, la différence de contrainte, qui a été optimisé. La différence de contrainte pendant la relaxation a été mesurée en moyenne à environ 130MPa pour l'ensemble des essais. L'ensemble des couples de paramètres, module initial et constante de temps caractéristique, a donc été recherché afin d'obtenir cette différence de contrainte. Ces valeurs sont représentées graphiquement en figure 5.2.

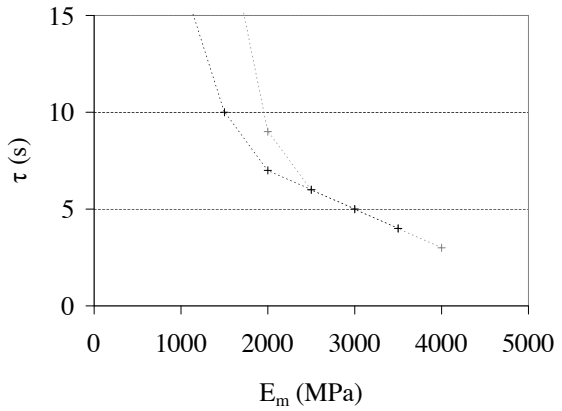


FIG. 5.2 – Représentation des couples de paramètres E_m et τ permettant un ajustement de la viscosité pour une déformation de 0,04 (gris) et 0,1 (noir)

Le choix du couple est alors décidé en fonction de l'allure de la courbe de traction et de relaxation, les temps courts étant privilégiés. Le couple ainsi choisi est pour, le module initial et la constante de temps caractéristique, respectivement de 3GPa et 5 secondes. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 5.5.

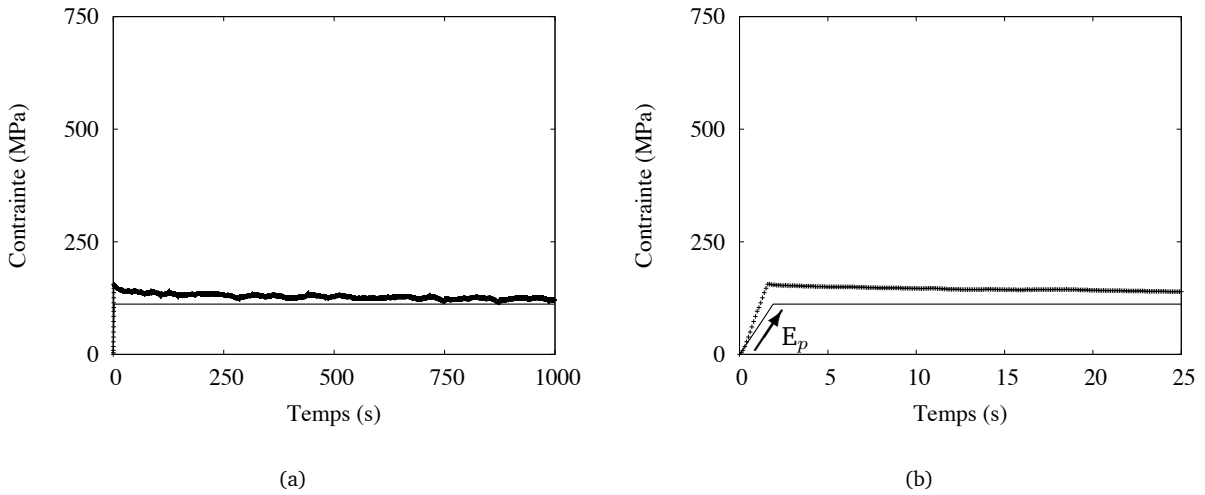


FIG. 5.3 – a. Ajustement du module initial de la branche élasto-plastique, le résultat du calcul (ligne) est comparé à l'essai de relaxation à une déformation de 0,01 (croix) pour les temps longs
b. Agrandissement aux vingt cinq premières secondes

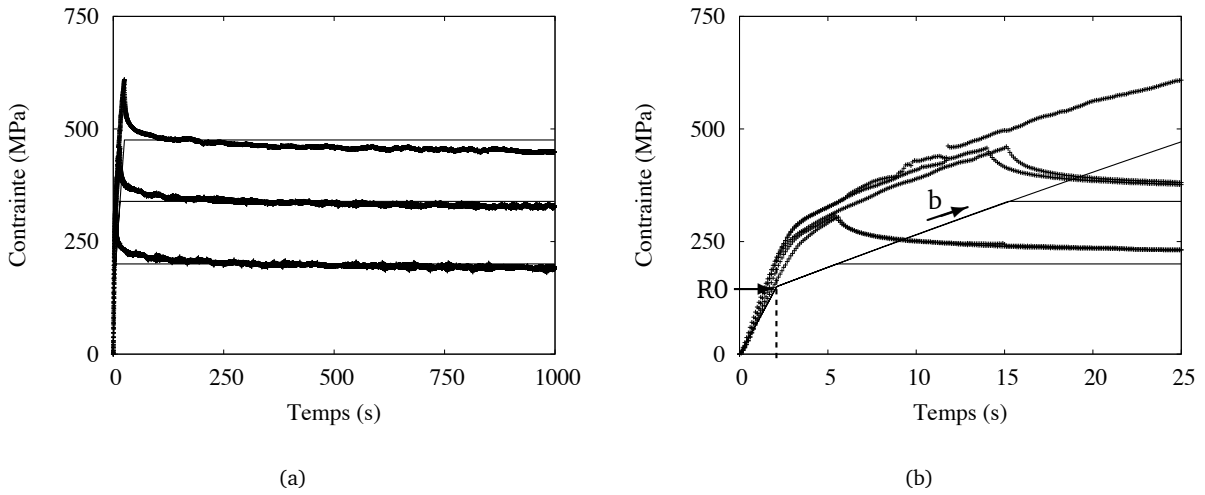


FIG. 5.4 – a. Recherche des paramètres de plasticité en utilisant les essais de relaxation aux déformations 0,04 ; 0,1 ; 0,16, le résultat du calcul (ligne) est comparé à l'essai de relaxation (croix) pour les temps longs
b. Agrandissement aux vingt cinq premières secondes

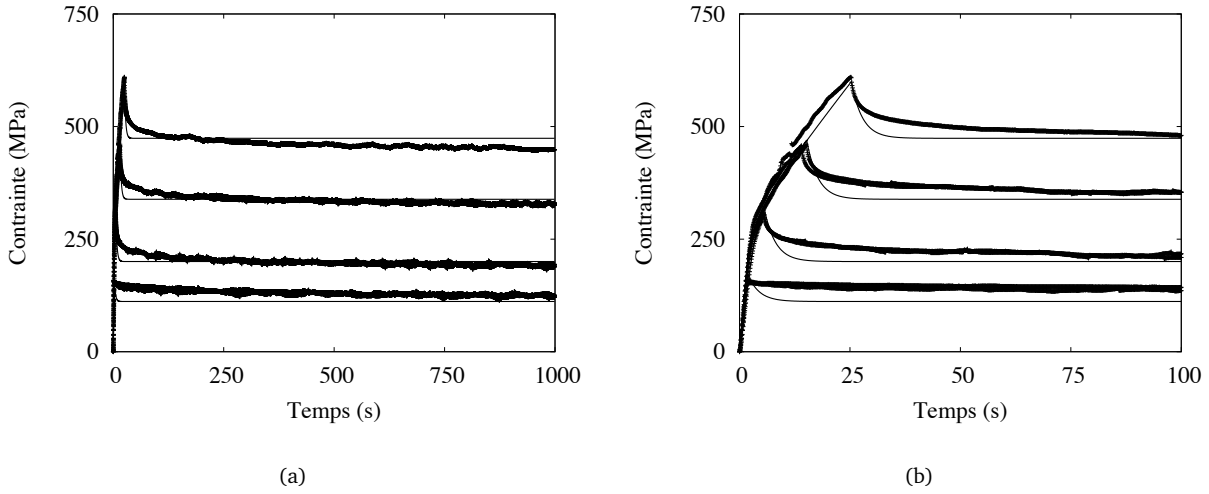
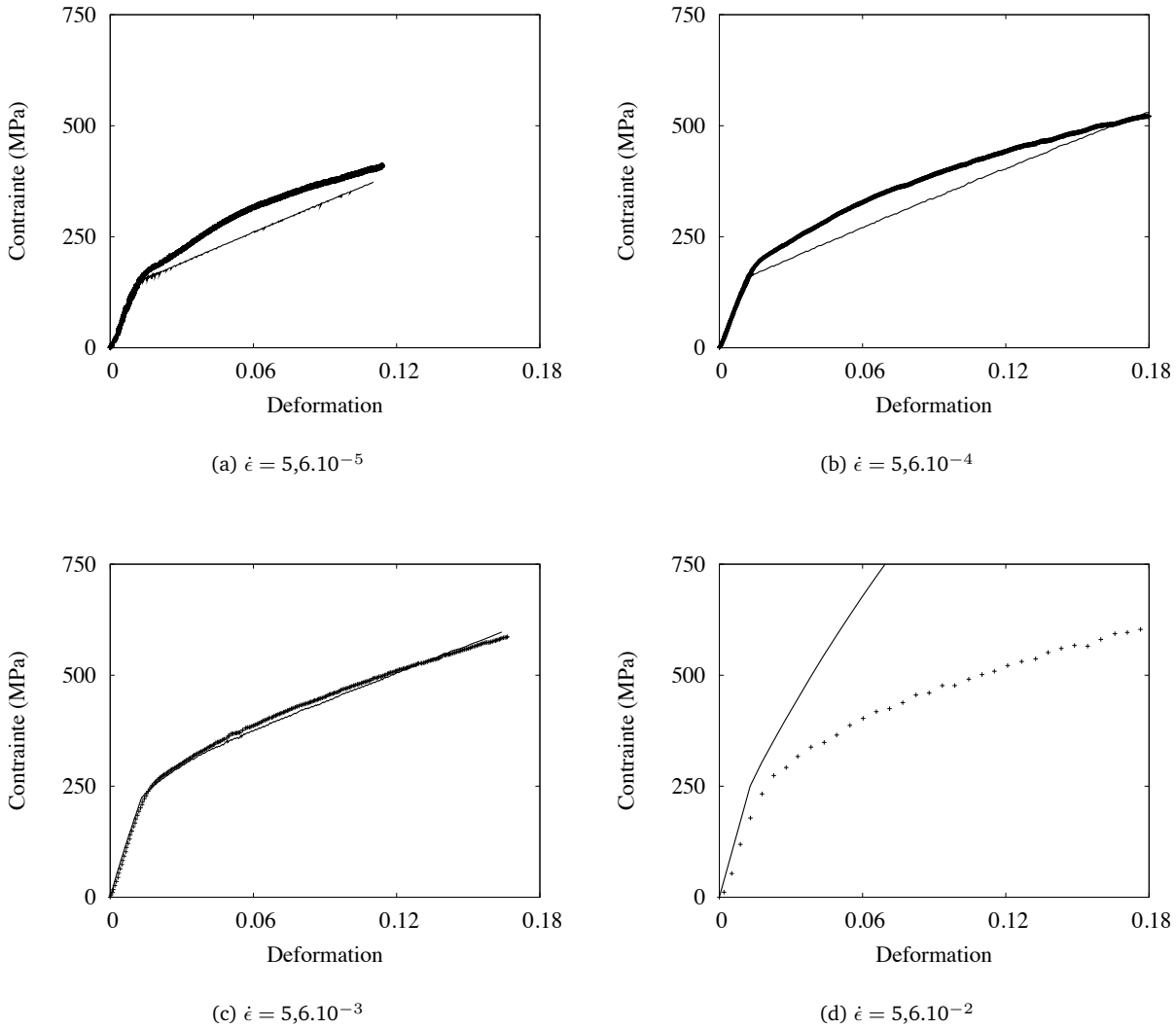


FIG. 5.5 – Recherche des paramètres du modèle de Maxwell aux déformations 0,01 ; 0,04 ; 0,1 ; 0,16, le résultat du calcul (ligne) est comparé à l'essai de relaxation (croix)

La viscosité n'est pas vraiment bien reproduite puisqu'elle est surestimée pour les faibles déformations et ne traduit pas l'ensemble du processus de relaxation à moyen terme. Ceci peut s'expliquer par une diversité des phénomènes amenant à la relaxation. Ainsi, il peut exister un certain nombre de constantes de temps caractéristiques de relaxation voire une infinité. La viscosité est donc ici traduite dans son ensemble par une approche de moyennage. Plusieurs constatations peuvent être faites si l'on compare les résultats de calcul et les essais. La viscosité reste en réalité faible pendant la phase réversible, avant le début de la plasticité, ce qui n'est pas pris en compte par le modèle. Les paramètres de viscosité sont en réalité dépendants de la déformation, ce qui n'est pas traduit par le modèle. La viscosité non linéaire pourrait être approchée par un modèle de Maxwell généralisé, multipliant les constantes de temps caractéristiques, traduisant différents phénomènes à l'échelle macromoléculaires dont la relaxation macroscopique résulte. Il n'a pas été choisi de mettre en place d'autres branches visco-élastiques pour ne pas augmenter le nombre de paramètres et tous les degrés de liberté que ceci implique.

5.2.2 La validation

Une fois le jeu de paramètres obtenu, celui-ci est validé sur des essais indépendants. Il a été choisi de vérifier la pertinence des valeurs obtenues premièrement sur des essais de traction à différentes vitesses dont les résultats sont présentés en figure 5.6.



(a) $\dot{\epsilon} = 5{,}6.10^{-5}$

(b) $\dot{\epsilon} = 5{,}6.10^{-4}$

(c) $\dot{\epsilon} = 5{,}6.10^{-3}$

(d) $\dot{\epsilon} = 5{,}6.10^{-2}$

FIG. 5.6 – Validation sur les essais de traction monotone à différentes vitesses : $\dot{\epsilon} = 5{,}6.10^{-5}$; $\dot{\epsilon} = 5{,}6.10^{-4}$; $\dot{\epsilon} = 5{,}6.10^{-3}$; $\dot{\epsilon} = 5{,}6.10^{-2}$, le résultat du calcul (ligne) est comparé aux essais de traction à différentes vitesses de traction (croix)

A la vitesse utilisée pour les essais de relaxation, $5{,}6.10^{-3}s^{-1}$, l'ajustement est quasiment parfait ce qui traduit le fait que les paramètres sont cohérents. Le modèle est donc capable de s'ajuster correctement et de traduire le comportement mécanique de la soie.

Cependant, on constate que pour les vitesses lentes, $5{,}6.10^{-5}s^{-1}$ et $5{,}6.10^{-6}s^{-1}$, la constante de temps caractéristique de la viscosité est trop courte ce qui résulte en une plasticité sans viscosité. Les essais sont donc bien reproduits jusqu'au seuil de plasticité, puis la contrainte est sous-estimée. On peut noter plus particulièrement pour l'essai à une vitesse de déformation de $5{,}6.10^{-5}s^{-1}$ un raidissement au delà de la limite d'élasticité, ceci pourrait traduire une réorganisation macromoléculaire avec une orientation des chaines de la phase amorphe sur les temps longs.

Pour la vitesse la plus élevée, on constate une incapacité du modèle à s'adapter au comportement. Ceci s'explique par une constante de temps caractéristique supérieure à la durée de l'essai. Il faut rappeler que les

essais ont été effectués sur quatre décades ce qui sous-entend le déploiement de mécanismes moléculaires variés dont les constantes de temps caractéristiques nécessitent une approche différente de la viscosité. Il aurait été possible de complexifier la partie visco-élastique en ajoutant deux autres branches. Par exemple, une branche permettant de s'approcher du comportement en vitesse de déformation élevée aurait traduit les mécanismes moléculaires rapides ; et une branche avec une constante de temps caractéristique plus longue aurait permis de mieux ajuster les relaxations à moyen terme et les essais en vitesse lente. Cependant, l'ajout de telles branches supplémentaires nécessiterait la multiplication des paramètres sans les essais expérimentaux permettant une identification objective de ces paramètres.

Ensuite la validation a été élargie à un essai cyclique dont le résultat est présenté en figure 5.7. Il faut noter que le modèle n'est alors pas complètement adapté aux conditions expérimentales. En effet, la plasticité est considérée comme un écrouissage isotrope linéaire, ce qui revient à augmenter la plasticité par traction ou compression. Or, pendant les décharges, le modèle implique une compression du matériau, ce qui n'est pas représentatif de la réalité puisque la fibre flambe mais n'est pas compressée. Ne pouvant contrôler en contrainte, limite due au calcul, et par soucis de cohérence avec les autres calculs, le contrôle des déformations a dû être modifié par rapport à l'essai expérimental utilisé. Ainsi, les déformations impliquant une compression ont été retirées. Les cycles sont alors bien représentés, il y a donc un bon ajustement du résultat de calcul avec l'essai. On peut constater que les décharges restent cependant mal décrites. La viscosité est encore une fois une limite importante de ce modèle.

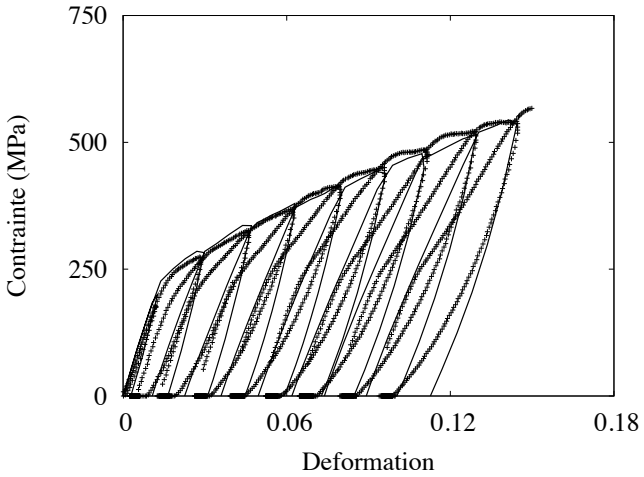


FIG. 5.7 – Validation sur les essais de charge-décharge, les palliers de contraintes successives sont 175 ; 275 ; 325 ; 375 ; 415 ; 450 ; 485 ; 525 ; 540MPa

Paramètres	E_p (GPa)	b (GPa)	R0 (MPa)	E_m (GPa)	τ (s)
Valeurs	11	3	150	3	5

TAB. 5.1 – Paramètres identifiés du modèle à partir de la soie du fil industriel décreusé

En conclusion, les paramètres obtenus sont regroupés dans le tableau 5.1. Le module initial global s'élève à 14GPa, proche du module mesuré à 13,4GPa, ce qui est normal puisqu'il y a eu une optimisation. Par contre, le rapprochement avec la littérature est délicat [Kras 08]. Dans la littérature, le module du modèle de Maxwell est considéré comme le module de la phase amorphe, il s'établit ici à 3GPa. Le module de la branche élasto-plastique est quant à lui considéré comme la résultante d'une association en série de phase amorphe et de phase cristalline, ce qui permet de revenir à un module de la phase cristalline car pour un système en série la relation suivante s'applique aux modules initiaux : 1/E = 1/E1 + 1/E2, avec E le module globale, E1 et E2 les modules des ressorts en série. Mais ce calcul ne peut pas s'appliquer dans le cas présent puisque le module global est supérieur à l'un des deux modules, en l'occurrence celui considéré comme représentatif de la phase amorphe. On peut alors émettre l'hypothèse que E_p ne représente que la phase cristalline, ce qui induit un module de 11GPa, relativement faible pour une phase cristalline.

5.2.3 Les résultats sur essais complexes

Un moyen plus simple peut être proposé pour obtenir ce jeu de paramètres. Il consiste en l'utilisation des essais complexes présentés dans le chapitre 3. Ces essais permettent en effet d'extraire une courbe virtuelle de traction à une vitesse de déformation donnée et la courbe virtuelle associée sans viscosité. La courbe sans viscosité permet alors d'obtenir les paramètres de la branche élasto-plastique : le module initial est obtenu directement ; et les paramètres de plasticité sont obtenus de manière plus complexe et subjective. Le modèle de Maxwell est alors écarté du modèle. Ensuite, le modèle de Maxwell est réincorporé et les résultats de calcul comparés à la courbe de traction. Les paramètres de viscosité sont alors obtenus pour ajuster la courbe. Les résultats obtenus de cette manière sont présentés en figure 5.8.

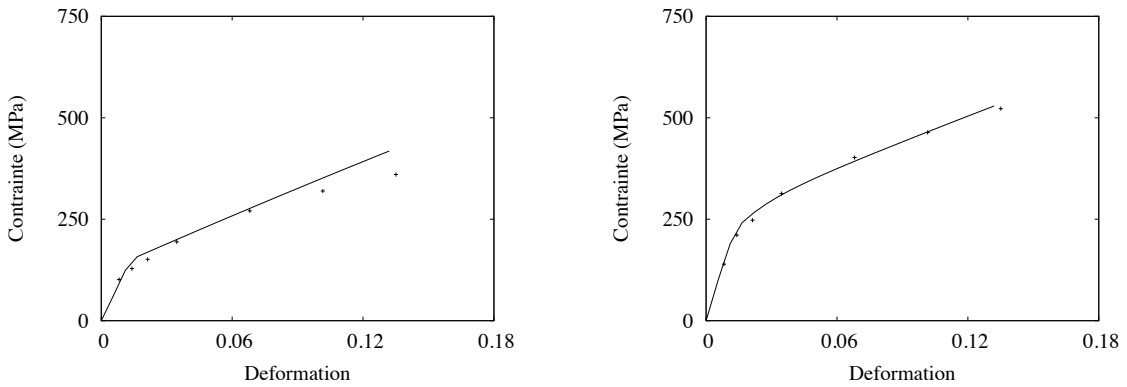


FIG. 5.8 – Identification des paramètres de l'élasto-plasticité (a) et du modèle de Maxwell (b) par les essais complexes, le résultat du calcul (ligne) est comparé aux valeurs expérimentales (croix)

On observe qu'avec le même jeu de paramètres, les deux courbes sont correctement corrélées. Les paramètres trouvés peuvent alors être validés sur l'essai complet comme présenté en figure 5.9. On observe que les essais complexes sont bien retrouvés avec le modèle et les paramètres.

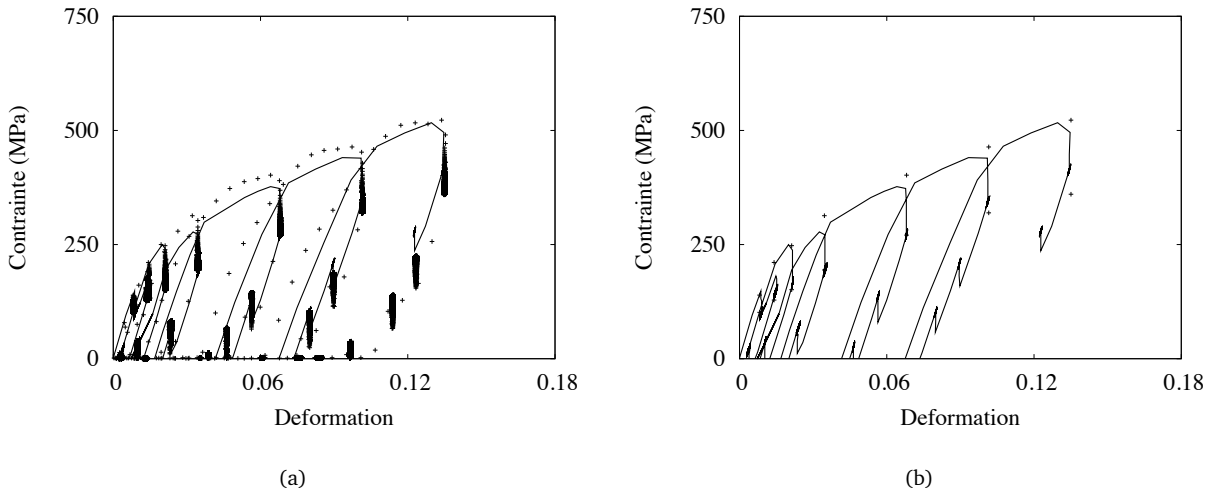


FIG. 5.9 – Validation des paramètres pour les essais complexes, le résultat du calcul (ligne) est comparé à l'expérimental (croix), dans le cas de l'essai complet (a) et des valeurs extraites des courbes virtuelles (b)

5.3 Essais en humidité

Le modèle s'applique donc bien dans le cas des conditions atmosphériques ambiantes. Il permet une simplification des phénomènes complexes ayant lieu au sein de la matière à l'échelle microstructurale induisant le comportement mécanique. Ainsi, le comportement est exprimé par une association en parallèle d'un modèle de type Maxwell et d'un comportement élasto-plastique. Il est intéressant d'exploiter cette simplification pour peut être mieux comprendre les modifications apportées par l'humidité sur le matériau et expliquer son comportement mécanique modifié.

5.3.1 Identification des paramètres

La méthode simplifiée a été utilisée en exploitant les essais complexes réalisés en humidité saturante. Les résultats sont montrés en figure 5.10. Les paramètres de plasticité sont obtenus sans difficulté. Par contre, la viscosité ne permet par de retrouver correctement le comportement en traction. Cette incapacité est due à l'apparition de divergence pendant le calcul pour certains jeux de paramètres, notamment pour les faibles valeurs de module. L'origine de cette divergence peut être induite par la matrice tangente simplifiée implémentée dans le modèle. En effet, celle-ci ne prend pas en compte les effets plastiques et visqueux.

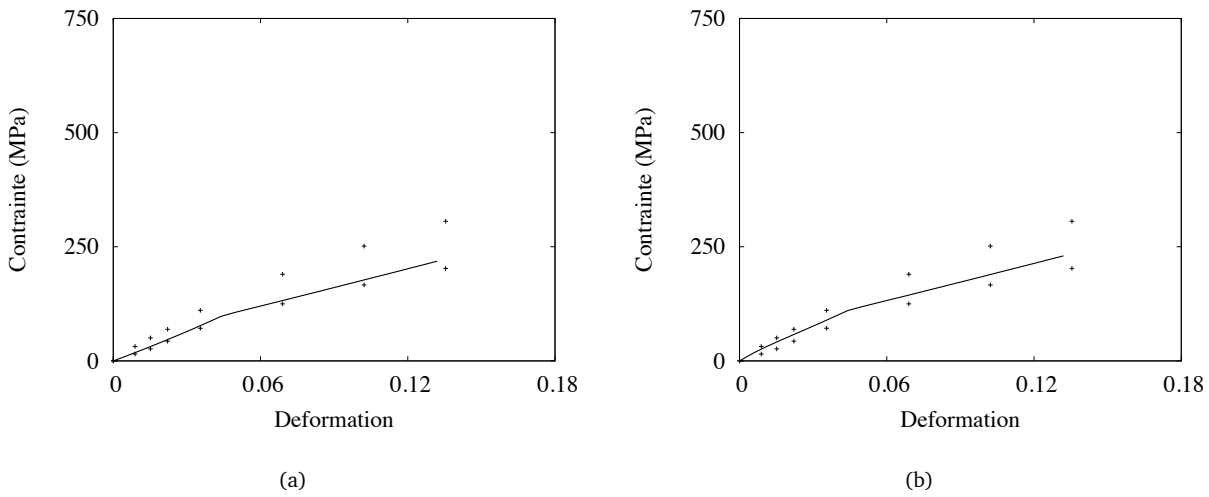


FIG. 5.10 – Identification des paramètres du modèle pour la condition en humidité saturante, le résultat du calcul (ligne) est comparé à l'essai complexe (croix), dans le cas où le modèle est sans visco-élasticité (a) ou avec (b)

5.3.2 La validation

Le résultat du calcul avec les paramètres obtenus est présenté en figure 5.11. On voit que l'ajustement est insuffisant, l'ensemble des paramètres n'est donc par validé.

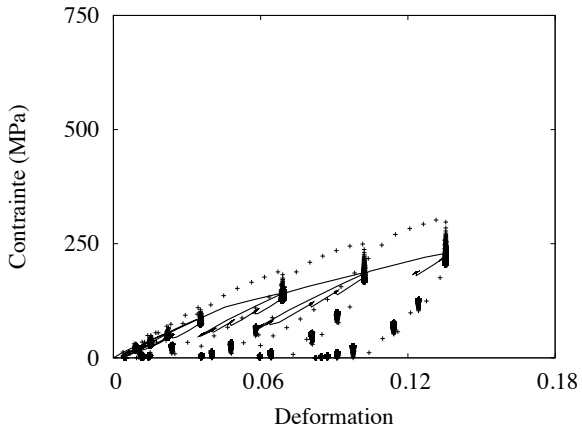


FIG. 5.11 – Validation des paramètres sur les essais complexes pour une humidité saturante, le résultat du calcul (ligne) est comparé à l'essai complexe (croix)

5.3.3 Exploitation des résultats

Les paramètres obtenus sont présentés dans le tableau 5.2. Malgré l'incapacité d'ajustement de la partie visco-élastique, les paramètres élasto-plastiques peuvent être comparés aux résultats précédemment obtenus. On observe que la pente de plasticité n'est pas modifiée, contrairement au seuil de plasticité et à l'élasticité. Or, l'eau est supposée altérer principalement les parties amorphes et non les parties cristallines. Deux hypothèses se dégagent alors. Soit, le module de la partie élasto-plastique est représentatif en partie de la phase amorphe, de même que le patin, notamment pour le seuil de plasticité. L'élasticité et la plasticité de la branche élasto-plastique sont alors représentatives d'un système reliant les deux phases. Le système doit alors être considéré comme plus complexe. Un autre modèle devrait être proposé et consister en un mélange d'organisation en série et en parallèle. Soit, la déstructuration de la phase amorphe ne permet pas une transmission intégrale des efforts sur la phase cristalline. La représentation mathématique doit être alors repensée car la simplification analogique nécessitant une architecture type pour la microstructure n'est alors pas suffisante pour exprimer tous les mécanismes complexes impliqués tels que le désenchevêtrement de la phase amorphe, la rotation des cristallites...

Dans tous les cas, des conclusions simples peuvent être proposées. L'eau augmentant le volume libre réduit les frottements et facilite les mouvements et transitions, ce qui modifie la plasticité de la phase amorphe, notamment sont initiation. Le système microstructural est vraisemblablement plus complexe qu'un système purement en parallèle ou en série mais combine ces possibilités. L'ajustement n'étant pas complètement satisfaisant, il ne permet pas d'aller plus loin dans les hypothèses.

Paramètres	E_p (GPa)	b (GPa)	R0 (MPa)	E_m (GPa)	τ (s)
Valeurs	2	3	100	0,5	3

TAB. 5.2 – Paramètres identifiés du modèle à partir de la soie du fil industriel décreusé maintenu dans une humidité saturante

5.4 Discussion sur l'apport de la modélisation

La modélisation permet de proposer une vue simplifiée des mécanismes expliquant le comportement mécanique de la soie. Il est possible de retrouver mathématiquement ce comportement mécanique, ce qui apporte des informations quant aux facteurs prédominants. Le modèle proposé, basé sur une compréhension physique de la microstructure et du comportement mécanique permet de simuler correctement ce dit comportement. Cette simplification permet alors d'émettre des hypothèses sur les mécanismes justifiant cette relation entre la microstructure et le comportement mécanique. Des efforts restent à faire pour rendre ce modèle plus robuste pour permettre de simuler également le comportement dans d'autres conditions d'humidité et de température.

Choix du modèle

Le modèle a été choisi pour retranscrire les observations expérimentales qui ont montré que l'architecture de la microstructure était principalement en parallèle. Le modèle analogique est donc composé de deux branches en parallèle, l'une visco-élastique que l'on rapprocherait *a priori* au comportement de la phase amorphe, l'autre élasto-plastique qui représenterait plutôt la phase cristalline.

Un jeu de paramètre a alors été identifié par un ajustement méthodique aux essais de relaxation. Ce jeu est présenté pour les conditions à 50%RH et 100%RH dans le tableau 5.3.

RH	E_p (GPa)	b (GPa)	R0 (MPa)	E_m (GPa)	τ (s)
50%	11	3	150	$\sim$	$\sim$
100%	2	3	100	0,5	3

TAB. 5.3 – Paramètres identifiés du modèle à partir de la soie du fil industriel décreusé maintenue dans différentes conditions d'humidité

Résultats du modèle

Le modèle proposé, ainsi que le jeu de paramètre obtenu, permettent un ajustement correct des essais de relaxation, de traction et de cycles. Le modèle est donc validé à la condition ambiante de 50%RH. Il est donc capable de simuler le comportement avec une structure relativement simple et un nombre limité de paramètres.

Cependant, il ne permet pas de tout simuler de manière satisfaisante. Notamment pour la viscosité, l'utilisation d'une seule constante de temps caractéristique est insuffisante. En effet, le modèle n'est pas capable de retranscrire correctement les mécanismes aux temps cours (inférieurs à une seconde) tels que les tractions à vitesse rapide (supérieures à $5{,}6.10^{-3}s^{-1}$), ni les mécanismes à moyen terme (environ vingt cinq secondes) ce qui ne permet pas un ajustement optimale de l'ensemble du comportement en relaxation ni des essais de traction à vitesses lentes (inférieures à $5{,}6.10^{-3}s^{-1}$).

De plus, la viscosité est surestimée aux petites déformations, pendant le début de la traction, lorsque les phénomènes sont encore réversibles. Les paramètres la traduisant sont donc dépendants de la déformation, ce qui n'est pas pris en compte dans ce modèle. Il est possible de considérer la visco-élasticité comme négligeable et privilégier une visco-plasticité. Cependant, l'ensemble des mécanismes observés n'auraient pas pu tous être pris en compte, et le modèle initial ne permettait pas cette possibilité.

Enfin, il reste le problème de la connexion entre les phénomènes décrits par le modèle et les mécanismes ayant lieu à l'échelle microstructural. Notamment, le modèle de Krasnov ne peut être appliqué dans le cas présent. Cette association de système en parallèle partiellement en série ne peut donc être confirmée. Plus généralement, il se pose la question de la légitimité des modèles à justifier certaines hypothèses et interrogations.

Elargissement au comportement en humidité

Le modèle étant satisfaisant pour la condition à 50%RH, son utilisation a été élargie à la condition en humidité saturante. On constate alors que l'ajustement de la partie élasto-plastique est possible, ce qui n'est pas le cas de la partie visqueuse. Le modèle n'est alors pas validé dans sa totalité. La cause de cette limitation est un problème de divergence résultant de certains jeux de paramètres. Les modules faibles ne permettent en effet pas d'obtenir de convergence du calcul, or l'humidité diminue fortement tous les modules. Il semblerait que la matrice tangente du modèle soit à l'origine de ce problème. Sa simplification en ne prenant pas en compte les parties plastiques et visqueuse peut expliquer la divergence.

La modélisation du comportement en eau permet cependant de déduire que le système architectural de la soie à l'échelle microscopique est complexe, le système en parallèle ne suffisant pas à expliquer l'ensemble du comportement. L'hypothèse que la partie visco-élastique est associée au comportement de la phase amorphe et que la partie élasto-plastique est associée au comportement de la phase cristalline est donc erronée.

Des incertitudes demeurent quant à l'interaction existant entre la phase amorphe et les cristallites, plus largement quant aux mécanismes présents à l'échelle moléculaire, rotation, désenchevêtrement... De même, aucun module de phase cristalline n'a pu être obtenu, la littérature le situant aux environs de 20GPa [Kras 08], cette valeur n'a pas pu être confirmée.

Informations obtenues

La qualité principale de ce modèle réside en sa structure en parallèle qui a été enrichie d'un phénomène de plasticité. Or, cette amélioration s'est montrée efficace pour simuler le comportement dans certaines conditions de vitesse de traction et d'humidité.

Plusieurs limites du modèle peuvent être constatées. La représentation de la viscosité est insuffisante, celle-ci est en réalité non linéaire et ne peut être décrite correctement par un modèle de Maxwell. Une possibilité consiste en une approximation par un modèle de Maxwell généralisé. Sinon, il faudrait envisager une viscosité non linéaire.

Le système architectural est trop simplifié, un système en parallèle ne suffit pas à décrire l'ensemble des mécanismes. Il faudrait imaginer un modèle plus complexe associant système en série et système en parallèle à l'image du modèle proposé par Krasnov, mais en prenant en compte les phénomènes de plasticité.

Enfin, le calcul est limité par lui-même puisqu'il ne permet pas de tester l'ensemble des jeux de paramètres possibles. La matrice tangente semble être en cause, car sa simplification reste une hypothèse forte.

En conclusion, le modèle visco-élasto-plastique correspond bien à l'étude du matériau 'soie'. Il décrit correctement le comportement sous certaines conditions. Il peut également être déduit de ces calculs que la microstructure de la soie est complexe et qu'une simplification sous la forme d'un système uniquement en parallèle ne répond pas complètement à la problématique. La description de l'architecture microstructurale en un système en parallèle est donc cohérente mais insuffisante, il faudrait élaborer des architectures mixtes mélangeant système en série et en parallèle.

Chapitre 6

Lien entre comportement mécanique et microstructure de la fibre de soie

Discussion générale

L'étude a donc permis de mieux apprécier le lien entre la microstructure et le comportement mécanique. Les connaissances apportées sont ici regroupées en commençant par une description multi-échelle du matériau 'fibroïne'. Puis, son comportement sous sollicitation y est décrit. Enfin, l'aspect composite de la soie est abordé en expliquant l'apport des séricines dans le comportement mécanique.

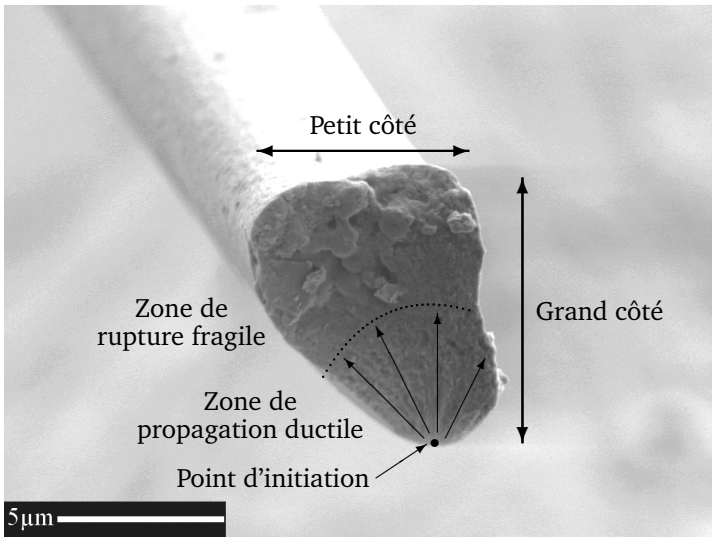
Description multi-échelle du matériau

Description morphologique

La fibre de soie est une fibre continue d'environ 1600 mètres de long. Sa section n'est pas circulaire, elle peut se représenter approximativement par un triangle rectangle. La section est difficile à évaluer, il est donc préférable de la mesurer indépendamment des propriétés mécaniques. Avec quelques approximations, elle peut être estimée à environ 80μm^2.

De plus, le fil n'est pas homogène dans sa longueur. Sa section diminue de l'extérieur (début de la production) vers l'intérieur (fin de la production) du cocon. Celle-ci n'est pas non plus homogène à plus petite échelle. En effet, la méthode de filage en 'huit' provoque un écrasement de la fibre tous les six millimètres environ. Le ver à soie fixe la soie de part et d'autre de sa tête en étirant le fil entre chaque point de fixation. Ces sections écrasées peuvent être la source de défauts caractérisant le comportement à rupture.

Les faciès de rupture d'une telle fibre sont divers, ce qui montre en partie la variabilité. Cependant, un faciès typique de semi-cristallin est généralement obtenu, avec un défaut initiant la rupture, entouré d'une zone de propagation puis d'un faciès de rupture fragile du reste de la section, voir la figure a.



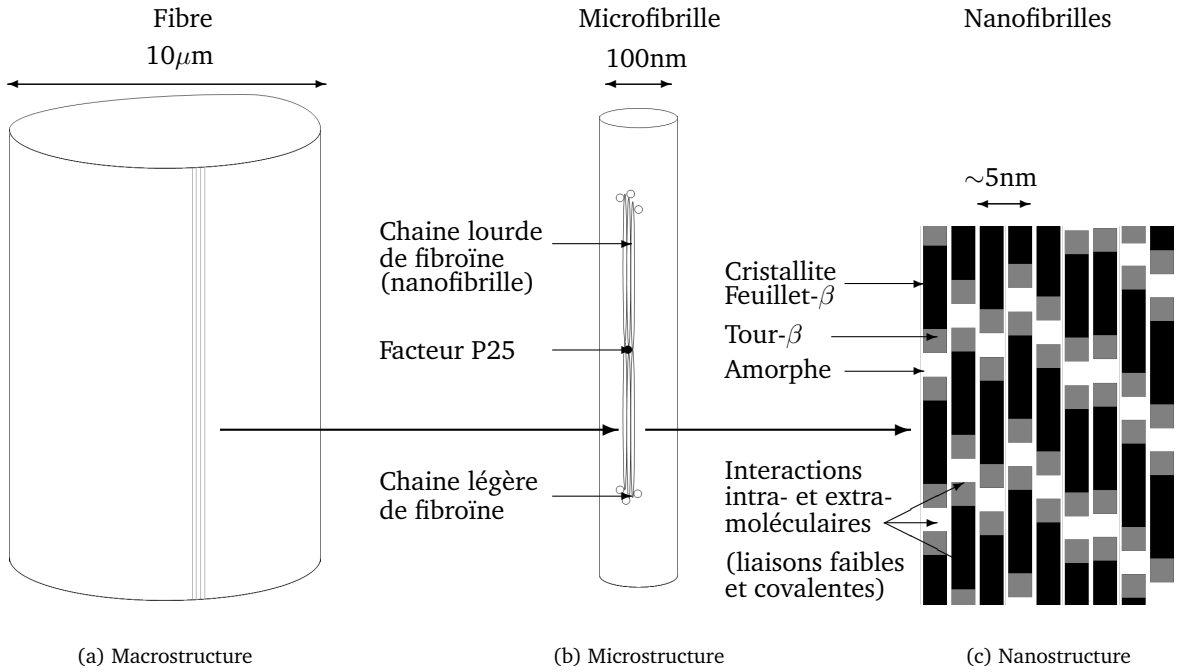
a. Observation microscopique d'un faciès de rupture de brin de fibroïne

Description microstructurale

La fibre de soie est composée de protéines appelées fibroïne. Il en existe trois types : la chaine lourde de fibroïne, la chaine légère de fibroïne et la fibrohexamerin (ou facteur P25). Leur proportion est respectivement de 6 :6 :1, et leur masse de 350kDa, 25kDa et 25kDa. On voit donc que la chaine lourde est le principal composant de la fibroïne (92% en masse), elle est considérée comme la protéine fibreuse à l'origine de la soie. Les chaines lourdes et chaines légères forment des paires reliées par un pont di-sulfure. Six de ces paires forment des liaisons faibles avec le facteur P25.

La séquence primaire de la chaine lourde est bien connue. Elle est principalement constituée d'un motif répétitif GAGAGS, composé de glycine, d'alanine et de sérine. Cette composition, ainsi que le procédé de filage, justifient son état microstructural. La soie est un semi-cristallin, la proportion de la phase cristalline est évaluée entre 40% et 50%. Cette phase cristalline prend la forme de cristallites orientées dans l'axe des fibres d'environ 6x2nm. Ces cristallites sont formées par une conformation protéique en feuillets-β. Elles sont séparées par

des régions dont la conformation est en tours-β voire amorphe. Les nanofibrilles, molécules de chaine lourde, sont composées d'un assemblage complexe en série et en parallèle de ces conformations. Les liaisons hydrogènes intra-moléculaires sont très importantes dans l'existence de ces conformations. De plus, les nanofibrilles forment des liaisons faibles inter-moléculaires entre elles, et une liaison covalente avec la chaine légère considérée comme amorphe. On découvre une microstructure complexe où phase amorphe et phase cristalline sont fortement liées, où les liaisons faibles prennent une place importante, et où l'architecture microstructurale ne se limite pas à un concept uniquement en série ou en parallèle. Enfin, l'orientation des cristallites est quasiment parfaite dans l'axe de la fibre. Une vue simplifiée de la microstructure est présentée en figure b.



b. Schématisation multi-échelle décrivant la structure de la soie

Différents types de soie

La soie est marquée par sa forte variabilité. Cette variabilité est visible au sein d'un même cocon avec la présence de défauts et des variations longitudinales de la fibre. Elle est également visible entre différents cocons due aux variations de l'individu, du filage, et de l'environnement. La variabilité peut être également apportée volontairement par sélection en obtenant différentes races de vers à soie ou par modification génétique. En l'occurrence, l'UNS a produit un nouveau type de ver à soie modifié génétiquement. Ainsi, une section de spidroïne est produite en fusion avec une GFP, protéine fusion qui remplace la chaine légère de fibroïne dans le complexe protéique.

Cette variabilité se traduit par des microstructures différentes. L'orientation des cristallites est peu modifiée, le procédé de filage en est donc certainement le facteur principal. Par contre, l'indice de cristallinité, qui peut être calculé, est dépendant de l'origine de la soie. Les variations de microstructure sont présentées dans le tableau ci-dessous.

	Bombyx mori UNS	*Bombyx mori* industriel	race Nistari	race Nistari modifiée
Indice $_{cristallin}$	0,48	0,44	0,38	0,29
Degrés d'orientation 200	0,01	0,02	0,02	0,03
Degrés d'orientation 002	0,97	0,97	0,97	0,97

Impact de l'environnement sur la microstructure

La microstructure est dépendante de l'environnement. Les protéines sont en effet sensibles à la température et les liaisons hydrogènes, très nombreuses dans ce polymère, sont sensibles à l'humidité.

On observe donc une désorganisation de la microstructure par l'apport de molécules d'eau avec une augmentation du volume libre. Les liaisons faibles principalement de la phase amorphe sont donc dissociées pour permettre des liaisons avec les molécules d'eau.

La température converge vers le même effet, l'eau en tant que plastifiant, permet d'abaisser la température de transition vitreuse jusqu'à l'amener à être inférieure à la température de 21°C. La température de transition vitreuse à l'état sec est considérée aux environs de 170-180°C.

Stockée à 50%RH, la soie contient environ 6-7% d'eau. Ce taux augmente jusqu'à plus de 25% en humidité saturante.

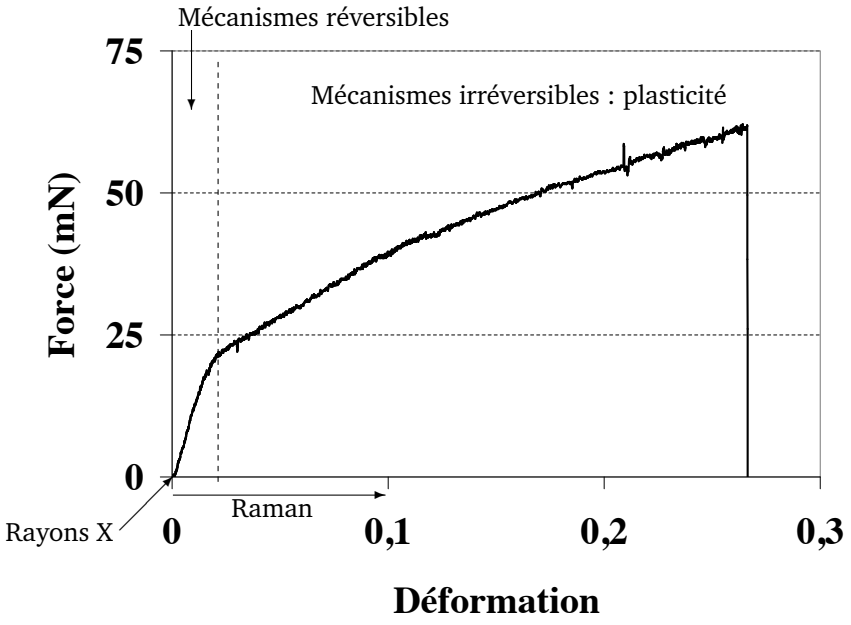
Comportement sous sollicitation

Comportement mécanique macroscopique

Le comportement macroscopique de la soie se traduit comme étant visco-élasto-plastique. Il existe donc une déformation limite (limite d'élasticité) jusqu'à laquelle les mécanismes restent réversibles. Au delà de cette limite, une déformation irréversible apparait. De plus, le comportement est dépendant de la vitesse de sollicitation, et les valeurs de contrainte ou de déformation évoluent de façon non linéaire en fonction du temps si l'une d'entre elle est fixée. Il y a donc des phénomènes de viscosité.

Sous sollicitation cyclique, on constate un adoucissement et si le maximum historique d'une des valeurs est dépassé, le comportement est alors indépendant de cet historique. Une sur-contrainte apparait juste avec le dépassement de ce maximum qui pourrait être la preuve des frottements moléculaires présents à l'échelle moléculaire.

Le module initial est calculé à 13,4GPa. La limite d'élasticité est évaluée à une déformation de 0,02. Les valeurs à rupture sont relativement dispersées, ce qu'il faut mettre en relation avec la forte variabilité, la contrainte à rupture et la déformation à rupture sont respectivement évaluées à 580MPa et 0,19. Une courbe caractéristique est présentée en figure c.

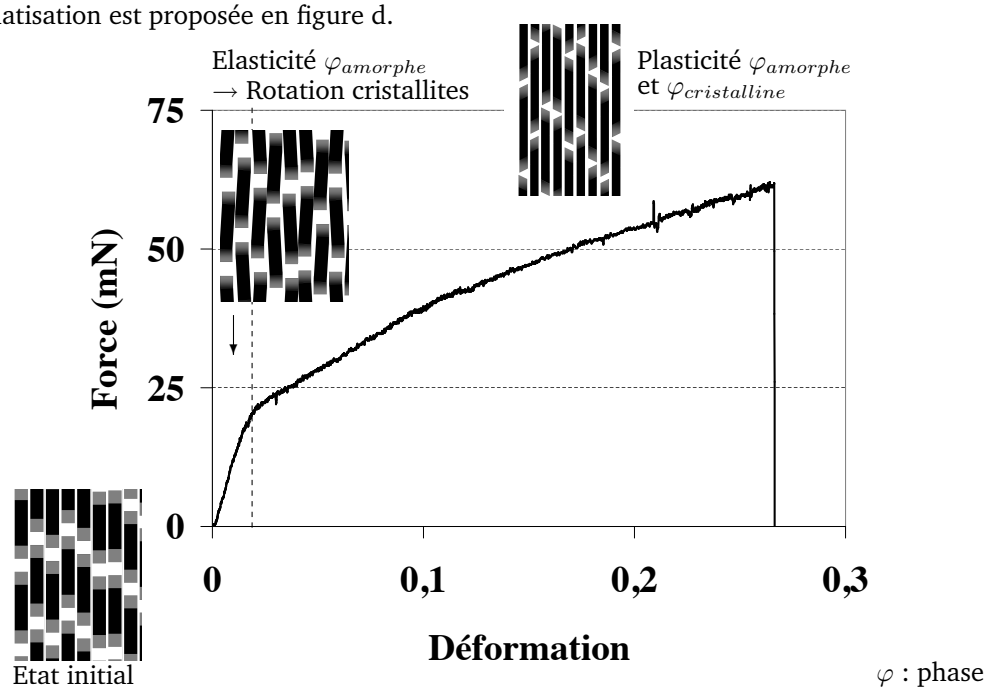


c. Courbe de traction monotone d'une fibre de fibroïne

Comportement mécanique microscopique

Le comportement mécanique peut s'expliquer à l'échelle microstructurale. La spectrométrie Raman permet notamment d'avoir une description *in situ* de l'état des déformations locales sous sollicitation à l'échelle macroscopique. Différents mécanismes peuvent ainsi être traduits. La sollicitation de la chaine carbonée survient dès le début de la sollicitation macroscopique, contrairement aux fibres synthétiques de polyamides. Une partie de l'architecture microstructurale est donc bien disposée en parallèle. Ensuite, la déformation de la phase amorphe induit une rotation réversible des cristallites. Au delà du seuil d'élasticité, de la plasticité apparait dans les différentes phases. Cette plasticité est associée à une perte de module initial qui peut s'expliquer au début par un désenchevêtrement de la phase amorphe puis par des ruptures covalentes. Des glissements fibrillaires se mettent certainement également en place pendant le processus de traction.

Une schématisation est proposée en figure d.



d. Hypothèses sur les mécanismes moléculaires à l'origine du comportement mécanique macroscopique

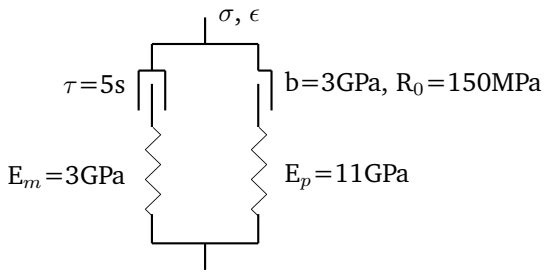
Comportement mécanique dépendant de l'environnement

La présence d'eau altère les propriétés mécaniques de la soie, de même que la température. En effet, les processus à l'échelle moléculaire se rejoignent provoquant une transition vitreuse et une augmentation du volume libre. Le comportement est alors fortement modifié, principalement aux déformations inférieures à la limite d'élasticité.

Les pentes initiales obtenues en température à 225°C et en humidité saturante à 21°C, calculées sur les courbes de force-déformation, sont équivalentes et estimées à 4.5-5N. Valeurs qu'il faut comparer à la pente initiale à 50%RH et 21°C évaluée à 17N (échantillons de fil industriel décreusé de section équivalente).

Modélisation du comportement mécanique

Basé sur ces connaissances, un modèle peut alors être proposé pour reproduire mathématiquement le comportement mécanique. Le modèle choisi est constitué d'un modèle de Maxwell placé en parallèle avec une branche élasto-plastique. La viscosité ainsi que la plasticité sont considérées comme linéaires. Ce modèle a permis de reproduire les essais mécaniques de manière satisfaisante pour la condition à 50%RH et 21°C. Il permet de confirmer la cohérence de la proposition d'une architecture microstructurale principalement basée sur un système en parallèle, mais montre aussi les limites de cette simplification. La viscosité est difficilement prise en compte et le rapprochement avec les phases microstructurales est complexe. De même, la simulation du comportement en humidité n'a pas été validée. Le modèle analogique et les paramètres obtenus sont présentés en figure e.



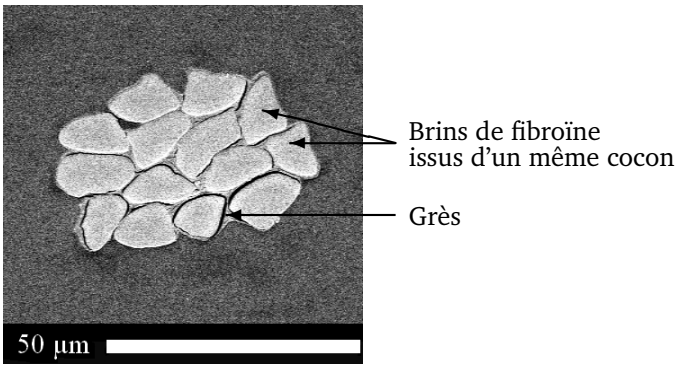
e. Modèle analogique proposé avec les paramètres identifiés

Aspect composite

Morphologie du composite

Après cette description de la microstructure et du comportement mécanique de la fibre de fibroïne, l'analyse multi-échelle peut se continuer sur l'assemblage qui constitue la soie naturelle. En effet, la soie produite par le ver est constituée de deux brins de fibroïne enrobés dans une gaine de séricines. Les séricines sont des protéines plutôt amorphes et hydrophiles. Elles servent de colle, de protection, et permettent une régulation de l'environnement intérieur du cocon. Elles sont maintenues pendant la plupart des procédés industriels pour protéger les brins, puis retirées pour faire ressortir l'ensemble des propriétés qualitatives de la soie.

Il a été utilisé dans cette étude un fil industriel de 20-22 deniers extrait d'une flotte fournie par l'industriel *Perrin & fils*. Le fil est alors constitué d'environ sept fils extraits de cocons différents et dévidés ensemble. Ceci permet de moyenner les propriétés et d'apporter un vrai comportement composite. Certains défauts apparaissent tout de même tels que des porosités par un mauvais regroupement des fils et des discontinuités lorsque d'un fil est retiré ou ajouté pour maintenir le diamètre moyen constant. Une section de fil industriel est présentée en figure f.

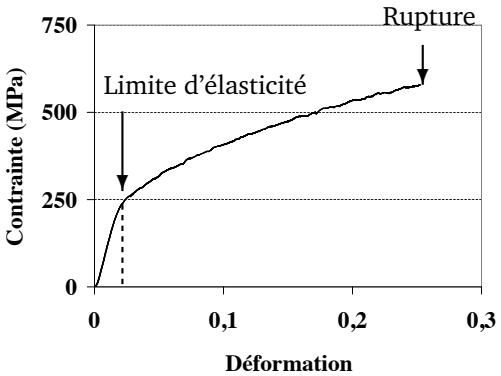


f. Observation en microscopie électronique de fil industriel constitué de 14 brins de fibroïne enrobés dans une matrice de séricines

Comportement sous sollicitation du composite

La gaine de séricines, ou grès, a longtemps été considérée comme négligeable pour expliquer les propriétés mécaniques de la soie. Cependant, les séricines sont naturellement présentes à hauteur de 20-26% du volume du cocon. De plus, il s'est avéré que leur comportement mécanique était plutôt proche de celui des brins de fibroïne en termes de module initial. Leur comportement semble par contre plus de type élastique à la vue des faciès de rupture fragiles. La contrainte de cisaillement à rupture à l'interface entre le grès et les brins de fibroïne peut être grossièrement évaluée à 145MPa, par une observation *in situ* de traction en microscopie électronique.

Les propriétés à rupture sont quant à elles améliorées en contrainte et en déformation, ce qui témoigne du réel effet composite de ce type de matériau. Une courbe de traction est présentée en figure g.



g. Courbe de traction typique d'un fil industriel de soie formant un composite de fibres de fibroïne et de grés

Conclusion

En conclusion, le comportement mécanique de la soie a pu être mieux décrit. L'aspect composite de la soie naturelle a été caractérisé. L'étude multi-échelle s'est également établie à l'échelle microstructurale et a permis de relier des mécanismes microstructuraux avec le comportement mécanique à l'échelle macroscopique. Enfin, un modèle a été proposé, il permet de simuler de manière satisfaisante de comportement mécanique de la soie en condition ambiante.

Perspectives

Les perspectives pourraient s'établir dans l'étude du comportement mécanique d'assemblages plus complexes pour mieux considérer les besoins de l'industrie et modéliser leur comportement. La compréhension des mécanismes à l'échelle moléculaire doivent également être mieux compris en humidité et en température afin de pouvoir modéliser le comportement mécanique macroscopique de manière plus complète.

La soie est un polymère passionnant a étudié. Malgré sa longue histoire, il recèle encore des secrets. Or, les applications peuvent être nombreuses dans le domaine prestigieux du biomédicale. La recherche doit se poursuivre pour mieux comprendre ce que nous offre la Nature pour mieux s'en servir, l'améliorer ou l'imiter.

Liste des publications et communications

Publication

Livre : *Handbook of tensile properties of textile and technical fibres ; Ed. Bunsell, A.R.*
Titre : "Types, structure and mechanical properties of silk"
Auteurs : Jauzein, V. ; Colomban, P.

Publications en cours

Journal : *Journal of Materials Science*
Titre : "Environmental effects on the mechanical behaviour of silk fibres"
Auteurs : Jauzein, V. ; Corté, L. ; Colomban, P. ; Bunsell, A.R.

Journal : *Journal of Applied Polymer Science*
Titre : "Bio-composite aspects of silk, a multi-scale analysis"
Auteurs : Jauzein, V. ; Bunsell, A.R.

Journal : *Nature Biotechnology*
Titre : "Recombinant spider silk spun from transgenic silkworms : impact on properties of the silk thread"
Auteurs : Royer, C. ; Jauzein, V. ; Da Rocha, M. ; Jalabert, A. ; Bunsell, A.R. ; Couble, P. ; Chavancy, G. ; Mauchamp, B.

Communication

Conférence : *Polymer Fibre 2010*
Titre : "Environmental effects on the mechanical behaviour of silk fibres"
Auteurs : Jauzein, V. ; Corté, L. ; Colomban, P. ; Bunsell, A.R.

Bibliographie

[Agar 97] N. Agarwal, D. Hoagland, and R. Farris. "Effect of moisture absorption on the thermal properties of *Bombyx mori* silk fibroin films". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 63 (3), pp. 401–410, 1997.

[Akai 83] H. Akai. "The structure and ultrastructure of the silk gland". *Experimentia*, Vol. 39 (5), pp. 443–449, 1983.

[Alex 69] L. Alexander. "Introduction to X-ray diffraction by polymers". X-ray diffraction methods in polymer science*, Edited by Alexander L.E.*, Vol. 1, pp. 1–64, 1969.

[Altm 02] G. Altman, R. Horan, H. Lu, J. Moreau, I. Martin, J. Richmond, and D. Kaplan. "Silk matrix for tissue engineered anterior cruciate ligaments". *Biomaterials*, Vol. 23, pp. 4131–4141, 2002.

[Altm 03] G. Altman, F. Diaz, C. Jakuba, T. Calabro, R. Horan, J. Chen, H. Lu, J. Richmond, and D. Kaplan. "Silk-based biomaterials". *Biomaterials*, Vol. 24, pp. 401–416, 2003.

[Amir 09] N. Amiraliyan, M. Nouri, and M. Kish. "Effects of some electrospinning parameters on morphology of natural silk-based nanofibers". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 113, pp. 226–234, 2009.

[Amsd 10] J. Amsden, P. Domachuk, A. Gopinath, R. White, L. Dal Negro, D. Kaplan, and F. Omenetto. "Rapid nanoimprinting of silk fibroin films for biophononic applications". *Advanced Materials*, Vol. 22, pp. 1746–1749, 2010.

[Asak 01a] T. Asakura, J. Ashida, T. Yamane, T. Kameda, Y. Nakasawa, K. Ohgo, and K. Komatsu. "A repeated β-turn structure in poly(ala-gly) as a model for silk I of *Bombyx mori* silk fibroin studied with two-dimensional spin-diffusion NMR under off magic angle spinning and rotational echo double resonance". *Journal of Molecular Biology*, Vol. 306, pp. 291–305, 2001.

[Asak 01b] T. Asakura, T. Yamane, Y. Nakasawa, T. Kameda, and K. Ando. "Structure of *Bombyx mori* silk fibroin before spinning in solid state studied with wide angle X-ray scattering and ^{13}C cross-polarization/magic angle spinning NMR". *Biopolymers*, Vol. 58, pp. 521–525, 2001.

[Asak 02] T. Asakura and J. Yao. " ^{13}C CP/MAS NMR study on structural heterogeneity in *Bomby mori* silk fiber and their generation by stretching". *Protein Science*, Vol. 11, pp. 2706–2713, 2002.

[Asak 04] T. Asakura and Y. Nakazawa. "Structure and structural changes of the silk fibroin from *Samia cynthia ricini* using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy". *Macromolecular Bioscience*, Vol. 4, pp. 175–185, 2004.

[Asak 05] T. Asakura, K. Ohgo, K. Komatsu, M. Kanenari, and K. Okuyama. "Refinement of repeated β-turn structure for silk I conformation of *Bombyx mori* silk fibroin using ^{13}C solid-state NMR and X-ray diffraction methods". *Macromolecules*, Vol. 38, pp. 7397–7403, 2005.

[Asak 07a] T. Asakura, K. Umemura, Y. Nakazawa, H. Hirose, J. Higham, and D. Knight. "Some observations on the structure and function of the spinning apparatus in the silkworm *Bombyx mori*". *Biomacromolecules*, Vol. 8, pp. 175–181, 2007.

[Asak 07b] T. Asakura, J. Yao, M. Yang, Z. Zhu, and H. Hirose. "Structure of the spinning apparatus of a wild silkworm *Samia cythia ricini* and molecular dynamics calculation on the structural change of the silk fibroin". *Polymer*, Vol. 48, pp. 2064–2070, 2007.

[Asak 97] T. Asakura, M. Demura, T. Date, N. Miyashita, K. Ogawa, and M. Williamson. "NMR study of silk I structure of *Bombyx mori* silk fibroin with ^{15}N- and ^{13}C-NMR chemical shift contour plots.". *Biopolymers*, Vol. 41, pp. 193–203, 1997.

[Aska 10] G. Askarieh, M. Hedhammar, K. Nordling, A. Saenz, C. Casals, A. Rising, J. Johansson, and S. D. Knight. "Self-assembly of spider silk proteins is controlled by a pH-sensitive relay". *Nature*, Vol. 465, pp. 236–239, 2010.

[Ayou 07] N. Ayoub, J. Garb, R. Tinghitella, M. Collin, and C. Hayashi. "Blueprint for a high-performance biomaterial : full-length spider dragline silk genes". *PLoS ONE*, Vol. 6, pp. 1–13, 2007.

[Ayut 05] J. Ayutsede, M. Gandhi, S. Sukigara, M. Micklus, H.-E. Chen, and F. Ko. "Regeneration of *Bombyx mori* silk by electrospinning part 3 : characterization of electrospun nonwoven mat". *Polymer*, Vol. 46, pp. 1625–1634, 2005.

[Bai 06] J. Bai, R. Sahed-Djawaher, T. Ma, W. Chu, R. Wang, L. Silva, C. Michal, J.-C. Chiao, and M. Chiao. "Spider silk as a new biomaterial for MEMS". *Micro Electro Mechanical Systems*, Vol. , pp. 226–229, 2006.

[Bai 08] L. Bai, L. Zhu, S. Min, L. Liu, Y. Cai, and J. Yao. "Surface modification and properties of *Bombyx mori* silk fibroin films by antimicrobial peptide". *Applied Surface Science*, Vol. 254, pp. 2988–2995, 2008.

[Bart 16] B. Bartow and M. Buffalo. "The further application of the intra-articular silk ligament in the flail joints of *poliomyelitis* paralysis". *Journal of Bone and Joint Surgery*, Vol. 2 (14), pp. 217–220, 1916.

[Beau 03] M. Beaulard. "Coefficient de Poisson : sur les propriétés élastiques des fils de soie et le coefficient de Poisson". *Journal de physique*, Vol. 4, pp. 785–795, 1903.

[Beck 03] N. Becker, E. Oroudjev, S. Mutz, J. Cleveland, P. Hansma, C. Hayashi, D. Makarov, and H. Hansma. "Molecular nanosprings in spider capture-silk threads". *Nature Materials*, Vol. 2, pp. 278–283, 2003.

[Beek 02] J. van Beek, S. Hess, F. Vollrath, and B. Meier. "The molecular structure of spider dragline silk : folding and orientation of the protein backbone". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 99 (16), pp. 10266–10271, 2002.

[Bitt 07] D. Bittencourt, B. Souto, N. Verza, F. Vinecky, K. Dittmar, P. Silva Jr., A. Andrade, F. da Silva, R. Lewis, and E. Rech. "Spidroins from the Brazilian spider *Nephilengys cruentata* (*Araneae : Nephilidae*)". *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, Vol. 147, pp. 597–606, 2007.

[Blac 06] T. Blackledge and C. Hayashi. "Silken toolkits : biomechanics of silk fibers spun by the orb web spider *Argiope argentata* (Fabricius 1775)". *The Journal of Experimental Biology,*, Vol. 209, pp. 2452–2461, 2006.

[Blos 10] W. Blossman-Myer, B.and Burggren. "The silk cocoon of the silkworm, *Bombyx mori* : macro structure and its influence on transmural diffusion of oxygen and water vapor". *Comparative Biochemistry and Physilogy, Part A*, Vol. 155, pp. 259–263, 2010.

[Bond 08] B. Bondar, S. Fuchs, A. Motta, C. Migliaresi, and C. Kirkpatrick. "Functionality of endothelial cells on silk fibroin nets : comparative study of micro- and nanometric fibre size". *Biomaterials*, Vol. 29, pp. 561–572, 2008.

[Brau 03] F. Braun and C. Viney. "Modelling self assembly of natural silk solutions". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 32, pp. 59–65, 2003.

[Broo 08] V. Brookes, R. Young, and F. Vollrath. "Deformation micromechanics of spider silk". *Journal of Materials Science,*, Vol. 43, pp. 3728–3732, 2008.

[Buns 05] A. Bunsell and J. Renard. "Micromechanisms of reinforcement and failure". Fundamentals of fibre reinforced composite materials*, Edited by Bunsell A.R. and Renard J.*, Vol. 7, pp. 228–275, 2005.

[Buns 09] A. Bunsell. "Introduction to fibre tensile properties and failure". Handbook of tensile properties of textile and technical fibres*, Edited by Bunsell A.R.*, Vol. 1, pp. 1–17, 2009.

[Buns 71] A. Bunsell, J. Hearle, and R. Hunter. "An apparatus for fatigue-testing of fibres". *Journal of Physics E : Scientific Instruments*, Vol. 4 (11), pp. 868–872, 1971.

[Chan 07] G. Chang, H.-J. Kim, D. Kaplan, G. Vunjak-Novakivic, and R. Kandel. "Porous silk scaffolds can be used for tissue engineering *annulus fibrosus*". *European Spine Journal*, Vol. 16, pp. 1848–1857, 2007.

[Chat 05] S. Chattopadhyay, M. Gulrajani, and K. Sen. "Study of property and structural variants of mulberry and tasar silk filaments". *AUTEX Research Journal*, Vol. 5 (2), pp. 81–86, 2005.

[Chee 07] S. Cheema, A. Gobin, R. Rhea, G. Lopez-Berestein, R. Newman, and A. Mathur. "Silk fibroin mediated delivery of liposomal emodin to breast cancer cells". *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 341, pp. 221–229, 2007.

[Chen 01] X. Chen, Z. Shao, N. Marinkovic, L. Miller, P. Zhou, and M. Chance. "Conformation transition kinetics of regenerated *Bombyx mori* silk fibroin membrane monitored by time-resolved FTIR spectroscopy". *Biophysical Chemistry*, Vol. 89, pp. 25–34, 2001.

[Chen 02] X. Chen, D. Knight, Z. Shao, and F. Vollrath. "Conformation transition in silk protein films monitored by time-resolved Fourier transform infrared spectroscopy : effect of potassium ions on *Nephila* spidroin films". *Biochemistry*, Vol. 41, pp. 14944–14950, 2002.

[Chen 04a] G. Chen, P. Zhou, N. Mai, X. Chen, Z. Shao, L. Pan, and C. Wu. "Silk fibroin modified porous poly(e-caprolactone) scaffold for human fibroblast culture in vitro". *Journal of Materials Science : Materials in Medicine*, Vol. 15, pp. 671–677, 2004.

[Chen 04b] Y.-Y. Chen, H. Lin, Y. Ren, H.-W. Wang, and L.-J. Zhu. "Study of *Bombyx mori* silk treated by oxygen plasma". *Journal of Zhejiang University Science*, Vol. 5 (8), pp. 918–922, 2004.

[Chen 07] X. Chen, Z. Shao, D. Knight, and F. Vollrath. "Conformation transition kinetics of *Bombyx mori* silk protein". *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics*, Vol. 68, pp. 223–231, 2007.

[Cheu 09] H.-Y. Cheung, K.-T. Lau, Y.-F. Pow, Y.-Q. Zhao, and D. Hui. "Biodegradation of a silkworm silk/PLA composite". *Composites : Part B*, Vol. 41, pp. 223–228, 2009.

[Colo 02] P. Colomban. "Analysis of strain and stress in ceramic, polymer and metal matrix composites by Raman spectroscopy". *Advanced Engineering Materials*, Vol. (4) 8, pp. 535–542, 2002.

[Colo 08] P. Colomban, H. Dinh, J. Riand, L. Prinsloo, and B. Mauchamp. "Nanomechanics of single silkworm and spider fibres : a Raman and micro-mechanical in situ study of the conformation change with stress". *Journal of Raman Spectroscopy*, Vol. 39 (12), pp. 1749–1764, 2008.

[Crai 00] C. Craig, C. Riekel, M. Herberstein, R. Weber, and N. Kaplan, D. Pierce. "Evidence for diet effects on the composition of silk proteins produced by spiders". *Molecular Biology and Evolution*, Vol. (17) 12, pp. 1904–1913, 2000.

[Crai 02] C. Craig and C. Riekel. "Comparative architecture of silks, fibrous proteins and their encoding genes in insects and spiders". *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, Vol. 133, pp. 493–507, 2002.

[Crai 97] C. Craig. "Evolution of arthropod silks". *Annual Review of Entomology*, Vol. 42, pp. 231–267, 1997.

[Cruz 06] D. Cruz, M.-E. Rousseau, M. West, M. Pézolet, and A. Hitchcock. "Quantitative mapping of the orientation of fibroin β-sheets in *Bombyx mori* cocoon fibers by scanning transmission X-ray microscopy". *Biomacromolecules*, Vol. 7, pp. 836–843, 2006.

[Dand 07] R. Dandu and H. Ghandehari. "Delivery of bioactive agents from recombinant polymers". *Progress in Polymer Science*, Vol. 32, pp. 1008–1030, 2007.

[Dash 07] R. Dash, S. Ghosh, D. Kaplan, and S. Kundu. "Purification and biochemical characterization of a $70kDa$ sericin from tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta*". *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, Vol. 147, pp. 129–134, 2007.

[Dash 09] B. Dash, B. Mandal, and S. Kundu. "Silk gland sericin protein membranes : fabrication and characterization for potential biotechnological applications". *Journal of Biotechnology*, Vol. 144, pp. 321–329, 2009.

[Demu 89] M. Demura, T. Asakura, and T. Kuroo. "Immobilization of biocatalysts with *Bombyx mori* silk fibroin by several kinds of physical treatment and its application to glucose sensors". *Biosensors*, Vol. 4, pp. 361–372, 1989.

[Demu 98] M. Demura, M. Minami, T. Asakura, and T. Cross. "Structure of *Bombyx mori* silk fibroin based on solid-state NMR orientational constraints and fiber diffraction unit cell parameters". *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 120, pp. 1300–1308, 1998.

[Denn 76] M. Denny. "The physical properties of spider's silk and their role in the design of orb-webs". *Experimental Biology*, Vol. 65, pp. 483–506, 1976.

[Detr 08] F. Detrez. "Modélisation du comportement". Nanomécanismes de déformation des polymères simi-cristallins, PhD Thesis Edited by Detrez F., Vol. 5, pp. 101–125, 2008.

[Dick 04] C. Dicko, D. Knight, J. Kenney, and F. Vollrath. “Structural conformation of spidroin in solution : a synchrotron radiation circular dichroism study”. *Biomacromolecules*, Vol. 5, pp. 758–767, 2004.

[Dick 06] C. Dicko, J. Kenney, and F. Vollrath. “β-silks : enhancing and controlling aggregation”. *Advances in Protein Chemistry*, Vol. 73, pp. 17–73, 2006.

[Dobb 67] M. Dobb, R. Fraser, and T. Macrae. “The fine structure of silk fibroin”. *The Journal of Cell Biology*, Vol. 32, pp. 289–295, 1967.

[Drum 05] L. Drummy, D. Phillips, M. Stone, B. Farmer, and R. Naik. “Thermally induced α-helix to β-sheet transition in regenerated silk fibers and films”. *Biomacromolecules*, Vol. 6, pp. 3328–3333, 2005.

[Du 06] N. Du, X. Liu, J. Narayanan, L. Li, M. Lek Min Lim, and D. Li. “Design of superior spider silk : from nanostructure to mechanical properties”. *Biophysical Journal*, Vol. 91, pp. 4528–4535, 2006.

[Duna 95] D. Dunaway, B. Thiel, and C. Viney. “Tensile mechanical property evaluation of natural and epoxide-treated silk fibers”. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 58, pp. 675–683, 1995.

[Eiso 10] L. Eisoldt, J. Hardy, M. Heim, and T. Scheibel. “The role of salt and shear on the storage and assembly of spider silk proteins”. *Journal of Structural Biology*, Vol. 170, pp. 413–419, 2010.

[Elic 09] M. Elices, G. Plaza, M. Arnedo, J. Pérez-Rigueiro, F. Torres, and G. Guinea. “Mechanical behaviour of silk during the evolution of orb-web spinning spiders”. *Biomacromolecules*, Vol. 10, pp. 1904–1910, 2009.

[Fedi 03] R. Fedič, M. Žurovec, and F. Sehnal. “Correlation between fibroin amino acid sequence and physical silk properties”. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 278 (37), pp. 35255–35264, 2003.

[Fran 01] R. Franck. “Silk”. Silk, mohair, cashmere and other luxury fibres*, edited by Franck R.R.*, Vol. 4, pp. 1–67, 2001.

[Fred 03] G. Freddi, R. Mossotti, and R. Innocenti. “Degumming of silk fabric with several proteases”. *Journal of Biotechnology*, Vol. 106, pp. 101–112, 2003.

[Fred 96] G. Freddi, M. Massafra, S. Beretta, S. Shibata, Y. Gotoh, H. Yasui, and M. Tsukada. “Structure and properties of *Bombyx mori* silk fibers grafted with Methacrylamide (MAA) and 2-HydroxyethylMethacrylate (HEMA)”. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 60, pp. 1867–1876, 1996.

[Fris 98] S. Frische, A. Maunsbach, and F. Vollrath. “Elongate cavities and skin-core structure in *Nephila* spider silk observed by electron microscopy”. *Journal of Microscopy*, Vol. 189 (1), pp. 64–70, 1998.

[Fu 09] C. Fu, D. Porter, and Z. Shao. “Moisture effects on *Antheraea pernyi* silk’s mechanical property”. *Macromolecules*, Vol. 42, pp. 7877–7880, 2009.

[Gand 09] M. Gandhi, H. Yang, L. Shor, and F. Ko. “Post-spinning modification of electrospun nanofiber nanocomposites from *Bombyx mori* silk and carbon nanotubes”. *Polymer*, Vol. 50, pp. 1918–1924, 2009.

[Gare 97] A. Garel, G. Deleage, and J.-C. Prudhomme. “Structure and organization of the *Bombyx mori* sericin 1 gene and of the sericins 1 deduced from the sequence of the ser 1BcDNA”. *Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 27 (5), pp. 469–477, 1997.

[Gedd 69] A. Geddes, G. Graham, H. Morris, F. Lucas, M. Barber, and W. Wolstenholme. “Mass-spectroscopy determination of the amino acid sequences in peptides isolated from the protein silk fibroin of *Bombyx mori*”. *Biochemistry Journal*, Vol. 114, pp. 695–702, 1969.

[Gliv 07a] A. Glišović and T. Salditt. “Temperature dependent structure of spider silk by X-ray diffraction”. *Applied Physics A*, Vol. 87, pp. 63–69, 2007.

[Gliv 07b] A. Glišović, J. Thieme, P. Guttmann, and T. Salditt. “Transmission X-ray microscopy of spider dragline silk”. *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 40, pp. 87–95, 2007.

[Gosl 02] J. Gosline, M. Lillie, E. Carrington, P. Guerette, C. Ortlepp, and K. Savage. “Elastic proteins : biological roles and mechanical properties”. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, Vol. 357, pp. 121–132, 2002.

[Gosl 99] J. Gosline, P. Guerette, C. Ortlepp, and K. Savage. “The mechanical design of spider silks : from fibroin sequence to mechanical function”. *The Journal of Experimental Biology*, Vol. 202, pp. 3295–3303, 1999.

[Goua 07] G. Gouadec and P. Colomban. "Raman spectroscopy of nanomaterials : how spectra relate to disorder, particle size and mechanical properties". *Progress in Crystal Growth Characterization of Materials*, Vol. 57, pp. 1–56, 2007.

[Guan 06] J.-P. Guan and G.-Q. Chen. "Flame retardancy finish with an organophosphorus retardant on silk fabrics". *Fire and Materials*, Vol. 30, pp. 415–424, 2006.

[Guan 07] Z. Guan. "Supra molecular design in biopolymers and biomimetic polymers for advanced mechanical properties". *Polymer International*, Vol. 56, pp. 467–473, 2007.

[Guin 05a] G. Guinea, M. Elices, J. Pérez-Rigueiro, and G. Plaza. "Stretching of supercontracted fibers : a link between spinning and the variability of spider silk". *The Journal of Experimental Biology*, Vol. 208, pp. 25–30, 2005.

[Guin 05b] G. Guinea, M. Elices, J. Real, S. Gutiérrez, and J. Pérez-Rigueiro. "Reproductibility of the tensile properties of spider (*Argiope trifasciata*) silk obtained by forced silking". *Journal of Experimental Zoology*, Vol. 303A, pp. 37–44, 2005.

[Ha 03] S.-W. Ha, Y. Park, and S. Hudson. "Dissolution of *Bombyx mori* silk fibroin in the calcium nitrate tetrahydrate-methanol system and aspects of wet spinning of fibroin solution". *Biomacromolecules*, Vol. 4, pp. 488–496, 2003.

[Ha 05] S.-W. Ha, H. Gracz, A. Tonelli, and S. Hudson. "Structural study of irregular amino acid sequences in the heavy chain *Bombyx mori* silk fibroin". *Biomacromolecules*, Vol. 6, pp. 2563–2569, 2005.

[Hagn 10] F. Hagn, L. Eisoldt, J. Hardy, C. Vendrely, M. Coles, T. Scheibel, and H. Kessler. "A conserved spider silk domain acts as a molecular switch that controls fibre assembly". *Nature*, Vol. 465, pp. 239–243, 2010.

[Haki 07] O. Hakimi, D. Knight, F. Vollrath, and P. Vadgama. "Spider and mulberry silkworm silks as compatible biomaterials". *Composites : Part B*, Vol. 38, pp. 324–337, 2007.

[Haki 10] O. Hakimi, Y. Gheysens, F. Vollrath, M. Grahn, D. Knight, and P. Vadgama. "Modulation of cell growth on exposure to silkworm and spider silk fibers". *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 92 (4), pp. 1366–1372, 2010.

[Hala 08] J. Halary, F. Lauprêtre, and L. Monnerie. "Les comportements anélastiques et viscoplastiques". Mécanique des matériaux polymères*, Edited by Halary J.L.*, Vol. 3, pp. 94–125, 2008.

[Hard 08] J. Hardy, L. Römer, and T. Scheibel. "Polymeric materials based on silk proteins". *Polymer*, Vol. 49, pp. 4309–4327, 2008.

[Haya 04] C. Hayashi, T. Blackledge, and R. Lewis. "Molecular and mechanical characterization of aciniform silk : uniformity of iterated sequence modules in a novel member of the spider silk fibroin gene family". *Molecular Biology and Evolution*, Vol. 21 (10), pp. 1950–1959, 2004.

[Haya 98] C. Hayashi and R. Lewis. "Evidence from flagelliform silk cDNA for the structural basis of elasticity and modular nature of spider silks". *Journal of Molecular Biology*, Vol. 275, pp. 773–784, 1998.

[Haya 99] C. Hayashi, N. Shipley, and R. Lewis. "Hypotheses that correlate the sequence, structure, and mechanical properties of spider silk proteins". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 24, pp. 271–275, 1999.

[He 07] J.-H. He, Y.-Q. Wan, and L. Xu. "Nano-effects, quantum-like properties in electrospun nanofibers". *Chaos, Solitons and Fractals*, Vol. 33, pp. 26–37, 2007.

[Hear 07] J. Hearle. "Protein fibres : structural mechanics and future opportunities". *Journal of Materials Science*, Vol. 42, pp. 8010–8019, 2007.

[Hesl 98] H. Heslot. "Artificial fibrous proteins : a review". *Biochimie*, Vol. 80, pp. 19–31, 1998.

[Hest 01] J. van Hest and D. Tirrell. "Protein-based materials, toward a new level of structure control". *Chemical Communications*, Vol. 19, pp. 1897–1904, 2001.

[Hinm 00] M. Hinman, J. Jones, and R. Lewis. "Synthetic spider silk : a modular fiber". *Tibtech*, Vol. 18 (9), pp. 374–379, 2000.

[Hinm 92] M. Hinman and R. Lewis. "Isolation of the clone encoding a second dragline silk fibroin". *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 267 (27), pp. 19320–19324, 1992.

[Holl 06] C. Holland, A. Terry, D. Porter, and F. Vollrath. "Comparing the rheology of native spider and silkworm spinning dope". *Nature Materials*, Vol. 5, pp. 870–874, 2006.

[Holl 07] C. Holland, A. Terry, D. Porter, and F. Vollrath. "Natural and unnatural silks". *Polymer*, Vol. 48, pp. 3388–3392, 2007.

[Hora 05] R. Horan, K. Antle, A. Collette, Y. Wang, J. Huang, J. Moreau, V. Volloch, D. Kaplan, and G. Altman. "In vitro degradation of silk fibroin". *Biomaterials*, Vol. 26, pp. 3385–3393, 2005.

[Hou 07] Y. Hou, Q. Xia, P. Zhao, Y. Zou, H. Liu, J. Guan, J. Gong, and Z. Xiang. "Studies on middle and posterior silk glands of silkworm (*Bombyx mori*) using two-dimensional electrophoresis and mass spectroscopy". *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 37, pp. 486–496, 2007.

[Hron 04] M. Hronska, J. van Beek, P. Williamson, F. Vollrath, and B. Meier. "NMR characterization of native liquid spider dragline from *Nephila edulis*". *Biomacromolecules*, Vol. 5, pp. 834–839, 2004.

[Hu 06] X. Hu, D. Kaplan, and P. Cebe. "Determining beta-sheet crystallinity in fibrous proteins by thermal analysis and infrared spectroscopy". *Macromolecules,*, Vol. 39, pp. 6161–6170, 2006.

[Hu 07] X. Hu, D. Kaplan, and P. Cebe. "Effect of water on the thermal properties of silk fibroin". *Thermochimica ACTA*, Vol. 461, pp. 137–144, 2007.

[Iizu 83] E. Iizuka. "The physico-chemical properties of silk fibers and the fiber spinning process". *Experimentia*, Vol. 39 (5), pp. 449–454, 1983.

[Inou 00] S. Inoue, K. Tanaka, F. Arisaka, S. Kiura, K. Ohtomo, and S. Mizuno. "Silk fibroin of *Bombyx mori* is secreted, assembling a high molecular mass elementary unit consisting of H-chain, L-chain, and P25, with a $6:6:1$ molar ratio". *The journal of Biological Chemistry*, Vol. 275 (51), pp. 40517–40528, 2000.

[Inou 98] K. Inouye, M. Kurokawa, S. Nishikawa, and M. Tsukada. "Use of *Bombyx mori* silk fibroin as a substratum for cultivation of animal cells". *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, Vol. 37, pp. 159–164, 1998.

[Jauz 09] V. Jauzein and P. Colomban. "Types, Structure and mechanical properties of silk". Handbook of tensile properties of textile and technical fibres*, Edited by Bunsell A.R.*, Vol. 6, pp. 144–178, 2009.

[Jeli 98] L. Jelinski. "Establishing the relationship between structure and mechanical function in silks". *Biomaterials*, Vol. 3, pp. 237–245, 1998.

[Jeli 99] L. Jelinski, A. Blye, O. Liivak, C. Michal, G. La Verde, S. Andreas, N. Shah, and Z. Yang. "Orientation, structure, wet-spinning, and molecular basis for supercontraction of spider dragline silk". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 24, pp. 197–201, 1999.

[Jian 06] P. Jiang, H. Liu, C. Wang, L. Wu, J. Huang, and C. Guo. "Tensile behavior and morphology of differently degummed silkworm (*Bombyx mori*) cocoon fibres". *Materials Letters*, Vol. 60, pp. 919–925, 2006.

[Jian 07] C. Jiang, X. Wang, R. Gunawidjaja, Y.-H. Lin, M. Gupta, D. Kaplan, R. Naik, and V. Tsukruk. "Mechanical properties of robust ultrathin silk fibroin films". *Advanced Functional Materials*, Vol. 17, pp. 2229–2237, 2007.

[Jin 02] H.-J. Jin, S. Fridrikh, G. Rutledge, and D. Kaplan. "Electrospinning *Bombyx mori* silk with poly(ethylene oxide)". *Biomacromolecules*, Vol. 3, pp. 1233–1239, 2002.

[Jin 03] H.-J. Jin and D. Kaplan. "Mechanism of silk processing in insects and spiders". *Nature*, Vol. 424, pp. 1057–1061, 2003.

[Jung 06] F. Junghans, M. Morawietz, U. Conrad, T. Scheibel, A. Heilmann, and U. Spohn. "Preparation and mechanical properties of layers made of recombinant spider silk proteins and silk from silkworm". *Applied physics A,*, Vol. 82, pp. 253–260, 2006.

[Kame 02] T. Kameda, Y. Nakazawa, J. Kazuhara, T. Yamane, and T. Asakura. "Determination of intermolecular distance for a model peptide of *Bombyx mori* silk fibroin GAGAG, with rotational echo double resonance". *Biopolymers*, Vol. 64, pp. 80–85, 2002.

[Kame 10] T. Kameda, K. Kojima, E. Togawa, H. Sezutsu, Q. Zhang, H. Teramoto, and Y. Tamada. "Drawing-induced changes in morphology and mechanical porperties of hornet silk gel films". *Biomacromolecules*, Vol. 11, pp. 1009–1018, 2010.

[Kane 00] R. Kanekatsu, E. Iizuka, K. Shirai, K. Kiguchi, K. Abe, and A. Hachimori. "Production and mechanical properties of fibroin-cellulose fiber". *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 69 (3), pp. 191–196, 2000.

[Kane 34] H. Kaneko. "The colloidal behaviour of sericin". *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, Vol. 8 (11), pp. 510–520, 1934.

[Kawa 96] Y. Kawahara, M. Shioya, and A. Takaku. "Mechanical properties of silk fibers treated with methacrylamide". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 61, pp. 1359–1364, 1996.

[Kete 10] S. Keten, Z. Xu, B. Ihle, and M. Buehler. "Nanoconfinement controls stiffness, strength and mechanical toughness of $\beta-$sheet crystals in silk". *Nature Materials*, Vol. 9, pp. 359–367, 2010.

[Khan 07] M. Khan, Y. Gotoh, H. Morikawa, M. Miura, Y. Fujimori, and M. Nagura. "Carbon fiber from natural biopolymer *Bombyx mori* silk fibroin with iodin treatment". *Carbon*, Vol. 45, pp. 1035–1042, 2007.

[Khan 08] M. Khan, H. Morikawa, Y. Gotoh, M. Miura, Z. Ming, Y. Sato, and M. Iwasa. "Structural characteristics and properties of *Bombyx mori* silk fiber obtained by different artificial forcibly silking speeds". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 42, pp. 264–270, 2008.

[Ki 07a] C. Ki, E. Gang, I. Um, and Y. Park. "Nanofibrous membrane of wool keratose/silk fibroin blend for heavy metal ion adsorption". *Journal of Membrane Science*, Vol. 302, pp. 20–26, 2007.

[Ki 07b] C. Ki, J. Kim, J. Hyun, K. Lee, M. Hattori, D. Ra, and Y. Park. "Electrospun three-dimensional silk fibroin nanofibrous scaffold". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 106, pp. 3922–3928, 2007.

[Ki 07c] C. Ki, J. Kim, H. Oh, K. Lee, and Y. Park. "The effect of residual silk sericin on the structure and mechanical property of regenerated silk filament". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 41, pp. 346–353, 2007.

[Ki 09] C. Ki, I. Um, and Y. Park. "Acceleration effect of sericin on shear induced $\beta-$transition of silk fibroin". *Polymer*, Vol. 50, pp. 4618–4625, 2009.

[Kim 04] U.-J. Kim, J. Park, C. Li, H.-J. Jin, R. Valuzzi, and D. Kaplan. "Structure and properties of silk hydrogels". *Biomacromolecules*, Vol. 5, pp. 786–792, 2004.

[Kim 05] U.-J. Kim, J. Park, H. Kim, M. Wada, and D. Kaplan. "Three-dimensional aqueous-derived biomaterial scaffolds from silk fibroin". *Biomaterials*, Vol. 26, pp. 2775–2785, 2005.

[Kim 07] Y. Kim, Y. Abe, T. Yanagiura, K. Park, M. Shimizu, Y. Iwazaki, S. Nakagawa, M. Endo, and M. Dresselhaus. "Easy preparation of nitrogen-enriched carbon materials from peptides of silk fibroins and their use to produce a high volumetric energy density in supercapacitors". *Carbon*, Vol. 47, pp. 2116–2125, 2007.

[Kim 10] D.-H. Kim, J. Viventi, J. Amsden, J. Xiao, L. Vigeland, Y.-S. Kim, J. Blanco, B. Panilaitis, E. Frechette, D. Contreras, D. Kaplan, F. Omenetto, Y. Huang, K.-C. Hwang, M. Zakin, B. Litt, and A. Rogers. "Dissolvable films of silk fibroin for ultrathin conformal bio-integrated electronics". *Nature Materials*, Vol. 9, pp. 511–517, 2010.

[Kimu 09] Y. Kimura. "Bio-based fibers : for establishing a new paradigm of fiber science and engineering". *Proceedings of the 10th Asian Textile Conference*, Vol. , pp. 1–4, 2009.

[Kino 07] R. Kino, T. Ikoma, S. Yunoki, N. Nagai, J. Tanaka, T. Asakura, and M. Munekata. "Preparation and characterization of multilayered hydroxyapatite/silk fibroin film". *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 103 (6), pp. 514–520, 2007.

[Kirk 07] C. Kirker-Head, V. Karageorgiou, S. Hofmann, R. Fajardo, O. Betz, H. Merkle, M. Hilbe, B. von Rechenberg, J. Mc Cool, L. Abrahamsen, A. Nazarian, E. Cory, M. Curtis, D. Kaplan, and L. Meinel. "BMP-silk composite matrices heal critically sized femoral defects". *Bone*, Vol. 42, pp. 9276–9283, 2007.

[Kiyo 99] M. Kiyosawa, E. Ito, K. Shirai, R. Kanekatsu, M. Miura, and K. Kiguchi. "Cocoon spinning behavior in the silkworm, *Bombyx mori* : comparison of three strains constructing different cocoons in shape". *Zoological Science*, Vol. 16, pp. 215–223, 1999.

[Klug 08] J. Kluge, O. Rabotyagova, G. Leisk, and D. Kaplan. "Spider silks and their applications". *Trends in Biotechnology*, Vol. 26 (5), pp. 244–251, 2008.

[Knig 02] D. Knight and F. Vollrath. "Biological liquid crystal elastomers". *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, Vol. 357, pp. 155–163, 2002.

[Koji 06] N. Kojić, J. Bico, C. Clasen, and G. McKinley. “Ex vivo rheology of spider silk”. *The Journal of Experimental Biology*, Vol. 209, pp. 4355–4362, 2006.

[Kras 08] I. Krasnov, I. Diddens, N. Hauptmann, G. Helms, M. Ogurreck, T. Seydel, S. Funari, and M. Müller. “Mechanical properties of silk : interplay of deformation on macroscopic and molecular length scales”. *Physical Review Letters*, Vol. (100) 4, pp. 1–4, 2008.

[Kumm 96] J. Kümmerlen, J. van Beek, F. Vollrath, and B. Meier. “Local structure in spider dragline silk investigated by two-dimensional spin-diffusion nuclear magnetic resonance”. *Macromolecules*, Vol. 29, pp. 2920–2928, 1996.

[Kund 08] J. Kundu, M. Dewan, S. Ghoshal, and S. Kundu. “Mulberry non-engineering silk gland protein vis-à-vis silk cocoon protein engineered by silkworms as biomaterial matrices”. *Journal of Materials Science*, Vol. 19, pp. 2679–2689, 2008.

[Lamm 10] A. Lammel, X. Hu, S.-H. Park, D. Kaplan, and T. Scheibel. “Controlling silk fibroin particle features for drug delivery”. *Biomaterials*, Vol. 31, pp. 4583–4591, 2010.

[Laza 02] A. Lazaris, S. Arcidiacono, Y. Huang, J.-F. Zhou, F. Duguay, N. Chretien, E. Welsh, J. Soares, and C. Karatzas. “Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells”. *Science*, Vol. 295, pp. 472–476, 2002.

[Lee 09] S.-M. Lee, E. Pippel, U. Gösele, C. Dresbach, Y. Qin, C. Chandran, T. Bräuniger, G. Hause, and M. Knez. “Greatly increased toughness of infiltrated spider silk”. *Science*, Vol. 324, pp. 488–492, 2009.

[Lefe 07] T. Lefèvre, M.-E. Rousseau, and M. Pézolet. “Protein secondary structure and orientation in silk as revealed by raman spectromicroscopy”. *Biophysical Journal*, Vol. 92, pp. 2885–2895, 2007.

[Lefe 09] T. Lefèvre, F. Paquet-Mercier, S. Lesage, M.-E. Rouseau, S. Bédard, and M. Pézolet. “Study by raman spectromicroscopy of the effect of tensile deformation on the molecular structure of *Bombyx mori* silk”. *Vibrational Spectroscopy*, Vol. 51, pp. 136–141, 2009.

[Li 01] G. Li, P. Zhou, Z. Shao, X. Xie, X. Chen, H. Wang, L. Chunyu, and T. Yu. “The natural silk spinning process”. *European Journal of Biochemistry*, Vol. 268, pp. 6600–6606, 2001.

[Li 02] M. Li, C. Zhang, S. Lu, Z. Wu, and H. Yan. “Study on porous silk fibroin materials : 3”. *Polymers for Advanced Technologies*, Vol. 13, pp. 605–610, 2002.

[Li 09] X. Li, P. Eles, and C. Michal. “Water permeability of spider dragline silk”. *Biomacromolecules*, Vol. 10, pp. 1270–1275, 2009.

[Liiv 98] O. Liivak, A. Blye, N. Shah, and L. Jelinski. “A microfabricated wet-spinning apparatus to spin fibers of silk proteins. Structure-property correlations”. *Macromolecules*, Vol. 31, pp. 2947–2951, 1998.

[Liu 05] Y. Liu, Z. Shao, and F. Vollrath. “Relationships between supercontraction and mechanical properties of spider silk”. *Nature Materials*, Vol. 4, pp. 901–905, 2005.

[Liu 07] H. Liu, Z. Ge, Y. Wang, A. Lok Toh, V. Sutthikhum, and J. Goh. “Modification of sericin-free silk fibers for ligament tissue engineering application”. *Journal of Biomedical Materials Research, Part B : Applied Biomaterials*, Vol. 82, pp. 129–138, 2007.

[Liu 08] Y. Liu, A. Sponner, D. Porter, and F. Vollrath. “Proline and processing of spider silks”. *Biomacromolecules*, Vol. 9, pp. 116–121, 2008.

[Liu 10] H. Liu, W. Xu, S. Zhao, J. Huang, H. Yang, Y. Wang, and C. Ouyang. “Silk-inspired polyurethane containing GlyAlaGlyAla tetrapeptide”. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 117, pp. 235–242, 2010.

[Lomb 90] S. Lombardi and D. Kaplan. “The amino acid composition of major ampullate gland silk (dragline) of *Nephila clavipes*”. *The Journal of Arachnology*, Vol. 18, pp. 297–306, 1990.

[Lotz 79] B. Lotz and C. Cesari. “The chemical structure and the crystalline structures of *Bombyx mori* silk fibroin”. *Biochimie*, Vol. 61, pp. 205–214, 1979.

[Love 07] M. Lovett, C. Cannizzaro, L. Daheron, B. Messmer, G. Vunjak-Novakovic, and D. Kaplan. “Silk fibroin microtubes for blood vessel engineering”. *Biomaterials*, Vol. 28, pp. 5271–5279, 2007.

[Luca 57] F. Lucas, J. Shaw, and S. Smith. “The amino acid sequence in a fraction of the fibroin of *Bombyx mori*”. *Biochemistry Journal*, Vol. 66, pp. 468–479, 1957.

[MacI 08] A. MacIntosh, V. Kearns, A. Crawfor, and P. Hatton. “Skeletal tissue engineering using silk biomaterials”. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Vol. 2, pp. 71–80, 2008.

[Mago 00] J. Magoshi, Y. Magoshi, M. Becker, M. Kato, Z. Han, T. Tanaka, S.-I. Inoue, and S. Nakamura. “Crystallization of silk fibroin from solution”. *Thermochimica ACTA*, Vol. 352-353, pp. 165–169, 2000.

[Mala 07] P. Malafaya, G. Silva, and R. Reis. “Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications”. *Advanced Drug Delivery Reviews,*, Vol. 59, pp. 207–233, 2007.

[Marc 06] A. Marcellan, A. Bunsell, L. Laiarinandrasana, and R. Piques. “A multi-scale analysis of the microstructure and the tensile mechanical behaviour of polyamide 66 fibre”. *Polymer*, Vol. 47, pp. 367–378, 2006.

[Mars 05] E. Marsano, P. Corsini, C. Arosio, A. Boschi, M. Mormino, and G. Freddi. “Wet spinning of *Bombyx mori* silk fibroin dissolved in N-methyl morpholine N-oxide and properties of regenerated fibres”. *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 37, pp. 179–188, 2005.

[Mars 55] R. Marsh, R. Corey, and L. Pauling. “An investigation of the structure of silk fibroin”. *Biochimica et Biophysica ACTA*, Vol. 16, pp. 1–34, 1955.

[Mart 07] A. Martel, M. Burghammer, R. Davies, and C. Riekel. “Thermal behavior of *Bombyx mori* silk : evolution of crystalline parameters, molecular structure and mechanical properties”. *Biomacromolecules*, Vol. 8, pp. 3548–3556, 2007.

[Mart 08] A. Martel, M. Burghammer, R. Davies, E. Di Cola, C. Vendrely, and C. Riekel. “Silk fiber assembly studied by synchrotron radiation SAXS/WAXS and Raman spectroscopy”. *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 130 (50), pp. 17070–17074, 2008.

[Mats 06] A. Matsumoto, J. Chen, A. Collette, U.-J. Kim, G. Altman, P. Cebe, and D. Kaplan. “Mechanisms of silk fibroin sol-gel transition”. *Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 110, pp. 21630–21638, 2006.

[Mats 08] A. Matsumoto, A. Lindsay, B. Abedian, and D. Kaplan. “Silk fibroin solution properties related to assembly and structure”. *Macromolecular Bioscience*, Vol. 8, pp. 1006–1018, 2008.

[Mats 99] Y.-I. Matsumoto, H. Saito, H. Morooka, and K. Harakawa. “Structure and twist level of silk string for use in racket sports”. *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 68 (5), pp. 365–371, 1999.

[Mein 04] L. Meinel, S. Hofmann, V. Karageorgiou, L. Zichner, R. Langer, D. Kaplan, and G. Vunjak-Novakovic. “Engineering cartilage-like tissue using human mesenchymal stem cells ans silk protein scaffolds”. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 88 (3), pp. 379–391, 2004.

[Mein 05] L. Meinel, R. Fajardo, S. Hofmann, R. Langer, J. Chen, B. Snyder, G. Vunjak-Novakovic, and D. Kaplan. “Silk implants for the healing of critical size bone defects”. *Bone*, Vol. 37, pp. 688–698, 2005.

[Mein 06] L. Meinel, O. Betz, R. Fajardo, S. Hofmann, A. Nazarian, E. Cory, M. Hilbe, J. McColl, R. Langer, G. Vunjak-Novakovic, H. Merkle, B. Rechenberg, D. Kaplan, and C. Kirker-Head. “Silk based biomaterials to heal critical sized femur defects”. *Bone*, Vol. 39, pp. 922–931, 2006.

[Mill 00] L. Miller and R. Eby. “A 45Å equatorial long period in dry dragline silk of *Nephila clavipes*”. *Polymer*, Vol. 41, pp. 3487–3490, 2000.

[Mill 99] L. Miller, S. Putthanarat, R. Eby, and W. Adams. “Investigation of the nanofibrillar morphology in silk by small angle X-ray scattering and atomic force microscopy”. *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 24, pp. 159–165, 1999.

[Min 04] B.-M. Min, G. Lee, S. Kim, Y. Nam, T. Lee, and W. Park. “Electrospinning of silk fibroin nanofibers and its effect on the adhesion and spreading of normal human keratinocytes and fibroblasts in vitro”. *Biomaterials*, Vol. 25, pp. 1289–1297, 2004.

[Mita 04] K. Mita, M. Kasahara, S. Sasaki, Y. Nagayasu, T. Yamada, H. Kanamori, N. Namiki, M. Kitagawa, H. Yamashita, Y. Yasukochi, K. Kadono-Okuda, K. Yamamoto, M. Ajimura, G. Ravikumar, M. Shimomura, Y. Nagamura, T. Shin-I, H. Abe, T. Shimada, S. Morishita, and T. Sasaki. “The genome sequence of silkworm, *Bombyx mori*”. *DNA Research*, Vol. 11, pp. 27–35, 2004.

[Mita 94] K. Mita, S. Ichimura, and T. James. "Highly repetitive structure and its organization of the silk fibroin gene". *Journal of Molecular Evolution*, Vol. 38, pp. 583–592, 1994.

[Mo 09] C. Mo, P. Wu, X. Chen, and Z. Shao. "The effect of water on the conformation transition of *Bombyx mori* silk fibroin". *Vibrational Spectroscopy*, Vol. 51 (1), pp. 105–109, 2009.

[Mond 07] M. Mondal, K. Trivedy, and S. Kumar. "The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori Linn*". *Caspian Journal of Environmental Sciences*, Vol. 5 (2), pp. 63–76, 2007.

[Mont 01] P. Monti, P. Taddei, G. Freddi, T. Asakura, and M. Tsukada. "Raman spectroscopy characterization of *Bombyx mori* silk fibroin : raman spectrum of silk I". *Journal of Raman Spectroscopy*, Vol. 32, pp. 103–107, 2001.

[Mont 05] P. Monti, G. Freddi, S. Sampaio, M. Tsukada, and P. Taddei. "Structure modifications induced in silk fibroin by enzymatic treatments. A raman study". *Journal of Molecular Structure*, Vol. 744-747, pp. 685–690, 2005.

[Mori 00] H. Mori and M. Tsukada. "New silk protein : modification of silk protein by gene engineering for production of biomaterials". *Reviews in Molecular Biotechnology*, Vol. 74, pp. 95–103, 2000.

[Mori 08] M. Moriya, K. Ohgo, Y. Masubuchi, and T. Asakura. "Flow analysis of aqueous solution of silk fibroin in the spinneret of *Bombyx mori* silkworm by combination of viscosity measurement and finite element method calculation". *Polymer*, Vol. 49, pp. 952–956, 2008.

[Mori 95] K. Mori, K. Tanaka, Y. Kikuchi, M. Waga, S. Waga, and S. Mizuno. "Production of a chimeric fibroin light-chain polypeptide in a fibroin secretion-deficient naked pupa mutant of the silkworm *Bombyx mori*". *Journal of Molecular Biology*, Vol. 251, pp. 217–228, 1995.

[Mort 75] W. Morton and J. Hearle. "Tensile properties". Physical properties of textile fibres*, Edited by Morton W.E. and Hearle J.W.S., 2^{sd} edition*, Vol. 13, pp. 265–304, 1975.

[Mott 02] A. Motta, L. Fambri, and C. Migliaresi. "Regenerated silk fibroin films : thermal and dynamic mechanical analysis". *Macromolecular chemistry and physics*, Vol. 203, pp. 1658–1665, 2002.

[Naka 89] K. Nakamae, T. Nishino, and H. Ohkubo. "Elastic modulus of the crystalline regions of silk fibroin". *Polymer*, Vol. 30, pp. 1243–1246, 1989.

[Numa 10] K. Numata, P. Cebe, and D. Kaplan. "Mechanism of enzymatic degradation of beta-sheet crystals". *Biomaterials*, Vol. 31, pp. 2926–2933, 2010.

[Orou 02] E. Oroudjev, J. Soares, S. Arcidiacono, J. Thompson, S. Fossey, and H. Hansma. "Segmented nanofibers of spider dragline silk : atomic force microscopy and single-molecule force spectroscopy". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 99, pp. 6460–6465, 2002.

[Papa 07] P. Papadopoulos, J. Sölter, and F. Kremer. "Structure-property relationships in major ampullate spider as deduced from polarized FTIR spectroscopy". *The European Physical Journal E*, Vol. 24, pp. 193–199, 2007.

[Pari 05] M. Parisien. "Introduction". Les feuillets beta dans les protéines*, PhD Thesis Edited by Parisien M.*, Vol. 1, pp. 1–28, 2005.

[Park 97] A. Parkhe, S. Seeley, K. Gardner, L. Thompson, and R. Lewis. "Structural studies of spider silk proteins in the fiber". *Journal of Molecular Recognition*, Vol. 10, pp. 1–6, 1997.

[Park 99] S. Park, K. Lee, W. Ha, and S. Park. "Structural changes and their effect on mechanical properties of silk fibroin/chitosan blends". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 74, pp. 2471–2575, 1999.

[Part 96] K. Parthasarathy, M. Naresh, V. Arumugam, V. Subramaniam, and R. Sanjeevi. "Study of the viscoelastic response of silk". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 59, pp. 2049–2053, 1996.

[Pere 07] K. Perepelkin. "Chemistry and technology of chemical fibres". *Fibre Chemistry*, Vol. 39 (4), pp. 308–317, 2007.

[Peri 07] S. Periyasamy, M. Gulrajani, and D. Gupta. "Preparation of a multifunctional mulberry silk fabric having hydrophobic and hydrophilic surfaces using VUV excimer lamp". *Surface and Coatings Technology*, Vol. 201, pp. 7286–7291, 2007.

[Perr 08] H. Perry, A. Gopinath, D. Kaplan, L. Dal Negro, and F. Omenetto. "Nano- and micropatterning of optically transparent, mechanically robust, biocompatible silk fibroin films". *Advanced Materials*, Vol. 20, pp. 3070–3072, 2008.

[Phil 05] D. Phillips, L. Drummy, R. Naik, H. De Long, D. Fox, P. Trulove, and R. Mantz. "Regenerated silk fibre wet spinning from an ionic liquid solution". *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 15, pp. 4206–4208, 2005.

[Plaz 09] G. Plaza, P. Corsini, E. Marsano, J. Pérez-Rigueiro, L. Biancotto, M. Elices, C. Riekel, F. Agulló-Rueda, E. Gallardo, J. Calleja, and G. Guinea. "Old silks endowed with new properties". *Macromolecules*, Vol. 42, pp. 8977–8982, 2009.

[Poza 02] P. Poza, J. Pérez-Rigueiro, M. Elices, and J. Llorca. "Fractographic analysis of silkworm and spider silk". *Engineering Fracture Mechanics*, Vol. 69, pp. 1035–1048, 2002.

[Prac 07] J. Prachayawarakorn and K. Boonsawat. "Physical, chemical, and dyeing properties of *Bombyx mori* silks grafted by 2-hydroxyethyl methacrylate and methyl methacrylate". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 106, pp. 1526–1534, 2007.

[Preg 07] M. Preghenella, G. Pezzotti, and C. Migliaresi. "Comparative raman spectroscopic analysis of orientation in fibers and regenerated films of *Bombyx mori* silk fibroin". *Journal of Raman Spectroscopy*, Vol. 38, pp. 522–536, 2007.

[Prez 00a] J. Pérez-Rigueiro, C. Viney, J. Llorca, and M. Elices. "Mechanical properties of silkworm silk in liquid media". *Polymer*, Vol. 41, pp. 8433–8439, 2000.

[Prez 00b] J. Pérez-Rigueiro, C. Viney, J. Llorca, and M. Elices. "Mechanical properties of single-brin silkworm silk". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 75, pp. 1270–1277, 2000.

[Prez 01] J. Pérez-Rigueiro, M. Elices, J. Llorca, and C. Viney. "Tensile properties of silkworm silk obtained by forced silking". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 82, pp. 1928–1935, 2001.

[Prez 02] J. Pérez-Rigueiro, M. Elices, J. Llorca, and C. Viney. "Effect of degumming on the tensile properties of silkworm (*Bombyx mori*) silk fiber". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 84, pp. 1431–1437, 2002.

[Prez 98] J. Pérez-Rigueiro, C. Viney, J. Llorca, and M. Elices. "Silkworm silk as an engineering material". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 70, pp. 2439–2447, 1998.

[Prie 07] J. Priestley. "Silky feeling". *Materials World*, Vol. 15, pp. 19–21, 2007.

[Putt 00] S. Putthanarat, N. Stribeck, S. Fossey, R. Eby, and W. Adams. "Investigation of the nanofibrils of silk fibers". *Polymer*, Vol. 41, pp. 7735–7747, 2000.

[Qiu 09] W. Qiu, W. Teng, J. Cappello, and X. Wu. "Wet-spinning recombinant silk-elastin-like protein polymer fibers with high tensile strength and high deformability". *Biomacromolecules*, Vol. 10, pp. 602–608, 2009.

[Riek 00] C. Riekel, B. Madsen, D. Knight, and F. Vollrath. "X-ray diffraction on spider silk during controlled extrusion under a synchrotron radiation X-ray beam". *Biomacromolecules*, Vol. 1, pp. 622–626, 2000.

[Riek 01] C. Riekel and F. Vollrath. "Spider silk fibre extrusion : combined wide- and small-angle X-ray microdiffraction experiments". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 29, pp. 203–210, 2001.

[Riek 99a] C. Riekel, C. Bränden, C. Craig, C. Ferrero, F. Heidelbach, and M. Müller. "Aspects of X-ray diffraction on single spider fibres". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 24, pp. 179–186, 1999.

[Riek 99b] C. Riekel, M. Müller, and F. Vollrath. "In situ X-ray diffraction during forced silking of spider silk". *Macromolecules*, Vol. 32, pp. 4464–4466, 1999.

[Rome 08] L. Römer and T. Scheibel. "The elaborate structure of spider silk". *Prion*, Vol. 2 (4), pp. 154–161, 2008.

[Ross 04] M. Rössle, P. Panine, V. Urban, and C. Riekel. "Structural evolution of regenerated silk fibroin under shear : combined wide- and small-angle X-ray scattering experiments using synchrotron radiation". *Biopolymers*, Vol. 74, pp. 316–327, 2004.

[Rous 04] M.-E. Rousseau, T. Lefèvre, L. Beaulieu, T. Asakura, and M. Pézolet. "Study of protein conformation and orientation in silkworm and spider silk fibres using Raman spectroscopy". *Biomacromolecules*, Vol. 5, pp. 2247–2257, 2004.

[Roye 05] C. Royer, A. Jalabert, M. Da Rocha, A.-M. Grenier, B. Mauchamp, P. Couble, and G. Chavancy. "Biosynthesis and cocoon-export of a recombinant globular protein in transgenic silkworms". *Transgenic Research*, Vol. 14, pp. 463–472, 2005.

[Samp 05] S. Sampaio, P. Taddei, P. Monti, J. Buchert, and G. Freddi. "Enzymatic grafting of chitosan onto *Bombyx mori* silk fibroin : kinetic and IR vibrational studies". *Journal of Biotechnology*, Vol. 116, pp. 21–33, 2005.

[Sash 07] E. Sashina, G. Janowska, M. Zaborski, and A. Vnuchkin. "Compatibility of fibroin/chitosan and fibroin/cellulose blends studied by thermal analysis". *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Vol. 89 (3), pp. 887–891, 2007.

[Sash 09] E. Sashina, O. Dubkova, N. Noposelov, J. Goralsky, M. Szynkowska, E. Lesniewska, W. Maniukiewicz, and G. Strobin. "Silver nanoparticles on fibers and films of *Bombyx mori* silk fibroin". *Russian Journal of Applied Chemistry*, Vol. 82 (6), pp. 974–980, 2009.

[Sche 04] T. Scheibel. "Spider silks : recombinant synthesis, assembly, spinning, and engineering of synthetic proteins". *Microbial Cell Factories*, Vol. 3 (14), pp. 1–10, 2004.

[Sche 05] T. Scheibel. "Protein fibers as performance proteins : new technologies and applications". *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 16, pp. 427–433, 2005.

[Segu 05] R. Seguela. "Critical review of the molecular topology of semicrystalline polymers : the origin and assessment of intercrystalline tie molecules and chain entanglements". *Journal of Polymer Science, Part B*, Vol. 43, pp. 1729–1748, 2005.

[Seid 00] A. Seidel, O. Liivak, S. Calve, J. Adaska, G. Ji, Z. Yang, D. Grubb, D. Zax, and L. Jelinski. "Regenerated spider silk : processing, properties, and structure". *Macromolecules*, Vol. 33, pp. 775–780, 2000.

[Sen 04] K. Sen and K. Babu. "Studies on Indian silk". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 92, pp. 1098–1115, 2004.

[Seyd 07] T. Seydel, K. Kölln, I. Krasnov, I. Diddens, N. Hauptmann, G. Helms, M. Ogurreck, S.-G. Kang, M. Koza, and M. Müller. "Silkworm silk under tensile strain investigated by synchrotron X-ray diffraction and neutron spectroscopy". *Macromolecules*, Vol. 40, pp. 1035–1042, 2007.

[Shao 02] Z. Shao and F. Vollrath. "Surprising strength of silkworm silk". *Nature*, Vol. 418, p. 741, 2002.

[Shao 05] J. Shao, J. Zheng, J. Liu, and C. Carr. "Fourier transform Raman and Fourier transform infrared spectroscopy studies of silk fibroin". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 96, pp. 1999–2004, 2005.

[Shao 99a] Z. Shao and F. Vollrath. "The effect of solvent on the contraction and mechanical properties of spider silk". *Polymer*, Vol. 40, pp. 1799–1806, 1999.

[Shao 99b] Z. Shao, R. Young, and F. Vollrath. "The effect of solvents on spider silk studied by mechanical testing and single-fibre raman spectroscopy". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 24, pp. 295–300, 1999.

[Shaw 64] J. Shaw. "Fractionation of the fibroin of *Bombyx mori* with Trypsin". *Biochemistry Journal*, Vol. 93, pp. 45–54, 1964.

[Shen 98] Y. Shen, A. Johnson, and D. Martin. "Microstructural characterization of *Bombyx mori* silk fibers". *Macromolecules*, Vol. 31, pp. 8857–8864, 1998.

[Shim 83] K. Shimura. "Chemical composition and biosynthesis of silk proteins". *Experimentia*, Vol. 39 (5), pp. 455–461, 1983.

[Shul 06] H. Shulha, C. Wong Po Foo, D. Kaplan, and V. Tsukruk. "Unfolding the multi-length scale domain of silk fibroin protein". *Polymer*, Vol. 47, pp. 5821–5830, 2006.

[Simm 94] A. Simmons, E. Ray, and L. Jelinski. "Solid-state ^{13}C NMR of *Nephila clavipes* dragline silk establishes structure and identity of crystalline regions". *Macromolecules*, Vol. 27, pp. 5235–5237, 1994.

[Sing 07] A. Singh, S. Hede, and M. Sastry. "Spider as an active scaffold in the assembly of gold nanoparticles and application of the gold-silk bioconjugate in vapor sensing". *Small*, Vol. 3 (3), pp. 466–473, 2007.

[Sins 02] A. Sinsawat, S. Putthanarat, Y. Magoshi, R. Pachter, and R. Eby. "X-ray diffraction and computational studies of the modulus of silk (*Bombyx mori*)". *Polymer*, Vol. 43, pp. 1323–1330, 2002.

[Siri 00] J. Sirichaisit, R. Young, and F. Vollrath. "Molecular deformation in spider dragline silk subjected to stress". *Polymer*, Vol. 41, pp. 1223–1227, 2000.

[Siri 03] J. Sirichaisit, V. Brookes, R. Young, and F. Vollrath. "Analysis of structure/property relationship in silkworm (*Bombyx mori*) and spider dragline (*Nephila edulis*) silks using raman spectroscopy". *Biomacromolecules*, Vol. 4 (2), pp. 387–394, 2003.

[Soma 97] R. Somashekar, H. Somashekarappa, G. Subramanyan, and U. Prahllad. "Effect of acid dye processing on microstructural parameters in silk fibres". *European Polymer Journal*, Vol. 33 (6), pp. 963–967, 1997.

[Soma 98] H. Somashekarappa, G. Nadiger, T. Somashekar, J. Prabhu, and R. Somashekar. "WAXS studies on silk fibres treated with acid (blue) and metal complex (brown) dyes". *Polymer*, Vol. (39) 1, pp. 209–213, 1998.

[Suki 03] S. Sukigara, M. Gandhi, J. Ayutsede, M. Micklus, and F. Ko. "Regeneration of *Bombyx mori* silk by electrospinning part 1 : processing parameters and geometric properties". *Polymer*, Vol. 44, pp. 5721–5727, 2003.

[Swan 06] B. Swanson, T. Blackledge, A. Summers, and C. Hayashi. "Spider dragline sik : correlated and mosaic evolution in high-performance biological materials". *Evolution,*, Vol. 60 (12), pp. 2539–3551, 2006.

[Tadd 05] P. Taddei and P. Monti. "Vibrational infrared conformational studies of model peptides representing the semicrystalline domains of *Bombyx mori* silk fibroin". *Biopolymers*, Vol. 78, pp. 249–258, 2005.

[Tadd 07] P. Taddei, C. Arosio, P. Monti, M. Tsukada, T. Arai, and G. Freddi. "Chemical and physical properties of sulfated silk fabrics". *Biomacromolecules*, Vol. 8, pp. 1200–1208, 2007.

[Taka 07] Y. Takasu, H. Yamada, T. Tamura, H. Sezutsu, K. Mita, and K. Tsubouchi. "Identification and characterization of a novel sericin gene expressed in the anterior middle silk gland of the silkworm *Bombyx mori*". *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 37 (11), pp. 1234–1240, 2007.

[Taka 99] Y. Takahashi, M. Gehoh, and K. Yuzuriha. "Structure refinement and diffuse streak scattering of silk (*Bombyx mori*)". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 24, pp. 127–138, 1999.

[Tama 05] Y. Tamada. "New process to form a silk fibroin porous 3-D structure". *Biomacromolecules*, Vol. 6, pp. 3100–3106, 2005.

[Tana 99a] K. Tanaka, S. Inoue, and S. Mizuno. "Hydrophobic interaction of P25, containing Asn-linked oligosaccharide chains, with the H-L complex of silk fibroin produced by *Bombyx mori*". *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 29, pp. 269–276, 1999.

[Tana 99b] K. Tanaka, N. Kajiyama, K. Ishikura, S. Waga, A. Kikushi, K. Ohtomo, T. Takagi, and S. Mizuno. "Determination of the site of disulfide linkage between heavy and light chains of silk fibroin produced by *Bombyx mori*". *Biochimica et Biophysica ACTA*, Vol. 1432, pp. 92–103, 1999.

[Tang 07] J. Tang, W.-F. Li, X. Zhang, and C.-Z. Zhou. "The gene expression profile of *Bombyx mori* silkgland". *gene*, Vol. 396, pp. 369–372, 2007.

[Tao 10] Y. Tao, Y. Yan, and W. Xu. "Physical characteristics and properties of waterbone polyurethane materials reinforced with fibroin powder". *Journal of Polymer Science, Part B*, Vol. 48, pp. 940–950, 2010.

[Tera 05] H. Teramoto and M. Miyasawa. "Molecular orientation behavior of silk sericin film as revealed by ATR infrared spectroscopy". *Biomacromolecules*, Vol. 6, pp. 2049–2057, 2005.

[Tera 08] H. Teramoto, T. Kameda, and Y. Tamada. "Preparation of gel film from *Bombyx mori* silk sericin and its characterization as a wound dressing". *Biosciences, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 72 (12), pp. 3189–3196, 2008.

[Term 04] Y. Termonia. "Nanoscale self-assembly of multiblock copolymer chains into rods". *Biomacromolecules*, Vol. 5, pp. 2404–2407, 2004.

[Thom 02] J.-L. Thomas, M. Da Rocha, A. Besse, B. Mauchamp, and G. Chavancy. "3*P3-EGFP marker facilitates screening for transgenic silkworm *Bombyx mori* L. from embryonic stage onwards". *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 32, pp. 247–253, 2002.

[Toku 80] S. Tokutake. "Isolation of the smallest component of silk protein". *Biochemical Journal*, Vol. 187, pp. 413–417, 1980.

[Tran 06] J. Trancik, J. Czernuszka, F. Bell, and C. Viney. "Nanostructural features of a spider dragline silk as revealed by electron and X-ray diffraction studies". *Polymer*, Vol. 47, pp. 5633–5642, 2006.

[Tsuk 96] M. Tsukada, M. Obo, H. Kato, G. Freddi, and F. Zanetti. "Structure and dyeability of *Bombyx mori* silk fibers with different filament sizes". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 60, pp. 1619–1627, 1996.

[Vall 99] R. Valluzzi, S. He, S. Gido, and D. Kaplan. "*Bombyx mori* silk fibroin liquid crystallinity and crystallization at aqueous fibroin-organic solvent interfaces". *International Journal of Bilogical Macromolecules*, Vol. 24, pp. 227–236, 1999.

[Van 00] J. Van Beek, L. Beaulieu, H. Schäfer, M. Demura, T. Asakura, and B. Meier. "Solid-state NMR determination of the secondary structure of *Samia cynthia ricini* silk". *Nature*, Vol. 405, pp. 1077–1079, 2000.

[Vepa 07] C. Vepari and D. Kaplan. "Silk as a biomaterial". *Progress in Polymer Science*, Vol. 32, pp. 991–1007, 2007.

[Voll 00] F. Vollrath. "Strength and structure of spiders' silks". *Reviews in Molecular Biotechnology*, Vol. 74, pp. 67–83, 2000.

[Voll 01] F. Vollrath and D. Knight. "Liquid crystalline spinning of spider silk". *Nature*, Vol. 410, pp. 541–548, 2001.

[Wang 05] H. Wang, Y. Zhang, H. Shao, and X. Hu. "A study of the flow stability of regenerated silk fibroin aqueous solution". *Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 36, pp. 66–70, 2005.

[Wang 06] Y. Wang, H.-J. Kim, G. Vunjak-Novakovic, and D. Kaplan. "Stem cell-based tissue engineering with silk biomaterials". *Biomaterials*, Vol. 27, pp. 6064–6082, 2006.

[Wang 07a] X. Wang, X. Hu, A. Daley, O. Rabotyagova, P. Cebe, and D. Kaplan. "Nanolayer biomaterial coatings of silk fibroin for controlled release". *Journal of Controlled Release*, Vol. 121, pp. 190–199, 2007.

[Wang 07b] X. Wang, E. Wenk, A. Matsumoto, L. Meinel, C. Li, and D. Kaplan. "Silk microspheres for encapsulation and controlled release". *Journal of Controlled Release*, Vol. 117, pp. 360–370, 2007.

[Wang 08] X. Wang, X. Zhang, J. Castellot, I. Herman, M. Iafrati, and D. Kaplan. "Controlled release from multilayer silk biomaterial coatings to modulate vascular cell responses". *Biomaterials*, Vol. 29, pp. 894–903, 2008.

[Wang 10a] X. Wang, L. Sun, M. Maffini, A. Soto, C. Sonnenschein, and D. Kaplan. "A complex 3-D human tissue culture system based on mammary stromal cells and silk scaffolds for modeling breast morphogenesis and function". *Biomaterials*, Vol. 31, pp. 3920–3929, 2010.

[Wang 10b] Y. Wang, E. Bella, C. Lee, C. Migliaresi, L. Pelcastre, Z. Schwartz, B. Boyan, and A. Motta. "The synergistic effects of 3-D porous silk fibroin matrix scaffold properties and hydrodynamic environment in cartilage tissue regeneration". *Biomaterials*, Vol. 31, pp. 4672–4681, 2010.

[Warw 54] J. Warwicker. "The crystal structure of silk fibroin". *Acta Crystallographica*, Vol. 7, pp. 565–573, 1954.

[Watt 99] S. Watt, I. McEwen, and C. Viney. "Stability of molecular order in silkworm silk". *Macromolecules*, Vol. 32, pp. 8671–8673, 1999.

[Wen 10] H. Wen, X. Lan, Y. Zhang, T. Zhao, Y. Wang, Z. Kajiura, and M. Nakagaki. "Transgenic silkworms (*Bombyx mori*) produce recombinant spider dragline in cocoons". *Molecular Biology Reports*, Vol. 37, pp. 1815–1821, 2010.

[Wenk 08] E. Wenk, A. Wandrey, H. Merkle, and L. Meinel. "Silk fibroin spheres as a platform for controlled drug delivery". *Journal of Controlled Release*, Vol. 132, pp. 26–34, 2008.

[Whar 10] S. Wharram, X. Zhang, D. Kaplan, and S. Mc Carthy. "Electrospun silk material systems for wound healing". *Macromolecular Bioscience*, Vol. 10, pp. 246–257, 2010.

[Wong 06] C. Wong Po Foo, E. Bini, J. Hensman, D. Knight, R. Lewis, and D. Kaplan. "Role of pH and charge silk protein assembly in insects and spiders". *Applied Physics A*, Vol. 82, pp. 223–233, 2006.

[Wu 07] W.-C. Wu, Q.-K. Gao, J.-E. Chen, J. Ye, Y.-W. Qian, J.-Y. Li, H.-Y. Lu, Z.-Q. Meng, C.-X. Ni, and B.-X. Zhong. "Analysis of two-dimensional gel electrophoresis images of protein from posterior silk gland of silkworm (*Bombyx mori*) on day 1 and day 4 in the 5th instar stage". *Agricultural Sciences in China*, Vol. 6 (2), pp. 249–254, 2007.

[Xu 90] M. Xu and R. Lewis. "Structure of a protein superfiber : spider dragline silk". *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, Vol. 87, pp. 7120–7124, 1990.

[Yama 01] H. Yamada, H. Nakao, Y. Takasu, and K. Tsubouchi. "Preparation of undegrated native molecular fibroin solution from silkworm cocoons". *Materials Science and Engineering C*, Vol. 14, pp. 41–46, 2001.

[Yama 03] T. Yamane, K. Umemura, Y. Nakasawa, and T. Asakura. "Molecular dynamics simulation of conformational change of poly(Ala-Gly) from silk I to silk II in relation to fiber formation mechanism of *Bombyx mori* silk fibroin". *Macromolecules*, Vol. 36, pp. 6766–6772, 2003.

[Yana 07] S. Yanagisawa, Z. Zhu, I. Kobayashi, K. Uchino, Y. Tamada, T. Tamura, and T. Asakura. "Improving cell-adhesive properties of recombinant *Bombyx mori* silk by incorporation of collagen or fibronectin derived peptides produced by transgenic silkworms". *Biomacromolecules*, Vol. 8, pp. 3487–3492, 2007.

[Yang 07] Y. Yang, F. Ding, J. Wu, W. Hu, W. Liu, J. Liu, and X. Gu. "Development and evaluation of silk fibroin-based nerve grafts used for peripheral nerve regeneration". *Biomaterials*, Vol. 28, pp. 5526–5535, 2007.

[Yang 09] M. Yang, J. Kawamura, Z. Zhu, K. Yamauchi, and T. Asakura. "Development of silk-like materials based on *Bombyx mori* and *Nephila clavipes* dragline silk fibroins". *Polymer*, Vol. 50 (1), pp. 117–124, 2009.

[Yang 97] Z. Yang, D. Grubb, and L. Jelinski. "Small-angle X-ray scattering of spider dragline silk". *Macromolecules*, Vol. 30, pp. 8254–8261, 1997.

[Yin 10] G.-B. Yin, Y.-Z. Zhang, S.-D. Wang, D.-B. Shi, Z.-H. Dong, and W.-G. Fu. "Study of the electrospun PLA/silk fibroin-gelatin composite nanofibrous scaffold for tissue engineering". *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 93 (1), pp. 158–163, 2010.

[Youn 07] R. Young and S. Eichhorn. "Deformation mechanisms in polymer fibres and nanocomposites". *Polymer*, Vol. 48, pp. 2–18, 2007.

[Zhan 02] Y.-Q. Zhang. "Applications of natural silk protein sericin in biomaterials". *Biotechnology Advances*, Vol. 20, pp. 91–100, 2002.

[Zhan 05] P. Zhang, K. Yamamoto, Y. Aso, Y. Banno, D. Sakano, Y. Wang, and H. Fujii. "Proteomic studies of isoforms of the P25 component of *Bombyx mori* fibroin". *Bioscience, Biotechnolology and Biochemistry*, Vol. 69 (11), pp. 2086–2093, 2005.

[Zhan 07] Y.-Q. Zhang, W.-D. Shen, R.-L. Xiang, L.-J. Zhuge, W.-J. Gao, and W.-B. Wang. "Formation of silk fibroin nanoparticles in water-miscible organic solvent and their characterization". *Journal of Nanoparticle Research*, Vol. 74, pp. 1953–1962, 2007.

[Zhan 10] K. Zhang, H. Wang, C. Huang, Y. Su, X. Mo, and Y. Ikada. "Fabrication of silk fibroin blended P(LLA-CL) nanofibrous scaffolds for tissue engineering". *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 93, pp. 984–993, 2010.

[Zhao 01] C. Zhao and T. Asakura. "Structure of silk studied with NMR". *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Vol. 39, pp. 301–352, 2001.

[Zhao 07a] H.-P. Zhao, X.-Q. Feng, W.-Z. Cui, and F.-Z. Zou. "Mechanical properties of silkworm cocoon pelades". *Engineering Fracture Mechanics*, Vol. 74, pp. 1953–1962, 2007.

[Zhao 07b] H.-P. Zhao, X.-Q. Feng, and H.-J. Shi. "Variability in mechanical properties of *Bombyx mori* silk". *Materials Science and Engineering C*, Vol. 27, pp. 675–683, 2007.

[Zhou 00] C.-Z. Zhou, F. Confalonieri, N. Medina, Y. Zivanovic, C. Esnault, T. Yang, M. Jacquet, J. Janin, M. Duguet, R. Perasso, and Z.-G. Li. "Fine organization of *Bombyx mori* fibroin heavy chain gene". *Nucleic Acids Research*, Vol. 28 (12), pp. 2413–2419, 2000.

[Zhou 01] C. Zhou, F. Confalonieri, M. Jacquet, R. Perasso, Z.-G. Li, and J. Janin. "Silk fibroin : structural implications of a remarkable amino acid sequence". *Proteins*, Vol. 44, pp. 119–122, 2001.

[Zhou 03] L. Zhou, X. Chen, Z. Shao, P. Zhou, D. Knight, and F. Vollrath. “Copper in the silk formation process of *Bombyx mori* silkworm”. *FEBS Letters*, Vol. 554, pp. 337–341, 2003.

[Zhou 05] L. Zhou, X. Chen, Z. Shao, Y. Huang, and D. Knight. “Effect of metallic ions on silk formation in the mulberry silkworm, *Bombyx mori*”. *Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 109, pp. 16937–16945, 2005.

[Zhu 07] J. Zhu, H. Shao, and X. Hu. “Morphology and structure of electrospun mats from regenerated silk aqueous solutions with ajusting pH”. *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 41, pp. 469–474, 2007.

[Zhu 08] J. Zhu, Y. Zhang, H. Shao, and X. Hu. “Electrospinning and rheology of regenerated *Bombyx mori* silk fibroin aqueous solutions : the effects of pH and concentration”. *Polymer*, Vol. 49, pp. 2880–2885, 2008.

[Zuro 02] M. Zurovec and F. Sehnal. “Unique molecular architecture of silk fibroin in the waxmoth *Galleria mellonella*”. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 277 (25), pp. 22639–22647, 2002.

Etude de la microstructure et du comportement mécanique de la fibre de soie

Résumé :

Les polymères naturels présentent de plus en plus une alternative crédible pour de nombreuses applications techniques et biomédicales. Ils possèdent des qualités de modularité, de durabilité, souvent de biocompatibilité, qui leurs sont propres. Mais la compréhension détaillée des mécanismes qui gouvernent le comportement de tels matériaux est difficile et reste souvent incomplète. Cette étude a cherché à mieux comprendre le lien qu'il existe entre le comportement mécanique et la microstructure pour la fibre de soie.

Une caractérisation minutieuse du comportement mécanique a donc été effectuée par des moyens parfois originaux comme l'association entre une machine de traction et une observation en microscopie électronique. Il a ainsi été montré l'aspect composite du fil de soie industriel et l'importance des différents éléments constitutifs de la soie. Le comportement de la fibre a également été décrit dans différentes conditions atmosphériques d'humidité et de température.

Cette caractérisation s'est accompagnée d'une description de la microstructure en utilisant des techniques telles que la diffraction aux rayons X et la spectrométrie Raman. Notamment, la spectrométrie Raman a pu être associée à une traction *in situ*. Ceci a permis d'établir des liens entre mécanique et microstructure.

Il a ainsi été prouvé notre capacité à modifier la microstructure et le comportement mécanique de la soie par voie biotechnologique en modifiant le génome du *Bombyx mori*. Ce qui ouvre une nouvelle voie d'innovation prometteuse pour améliorer ce type de matériau.

Enfin, une modélisation simple mais robuste basée sur une description physique du matériau a permis de valider les avancées faites quant à la compréhension de ce polymère. Le comportement en environnement contrôlé a été étudié. Ces résultats pourraient alimenter des études numériques sur des assemblages, plus proches du produit fini.

Mots clefs : Soie, microstructure, comportement mécanique, analyse multiéchelle, Diffraction aux rayons X, microextensométrie Raman, *Bombyx mori*, araignée.

Study of the microstructure and the mechanical behaviour of silk fibre

Abstract:

Natural polymers seem to be more and more a credible alternative for many applications such as technical or biomedical applications. They have evident qualities such as modularity, durability, and usually biocompatibility. Nevertheless a detailed understanding of the mechanisms governing the behaviour of these materials is difficult and usually incomplete. This study deals with the understanding of the relationship between the mechanical behaviour and microstructure of silk fibres.

Precise mechanical characterization has been carried out, sometimes with original experiments such as the association of a mechanical testing machine and electronic microscopy. Hence, it has been shown that silk presents a composite behaviour and all its constituents are important explaining the mechanical behaviour of industrial silk yarns. This behaviour has been described under different atmospheric conditions of temperature and humidity.

This characterization has been linked with a microstructural description using X-ray diffraction and Raman spectroscopy techniques. Notably, Raman spectrometry has been associated with an *in situ* mechanical tester machine. This has permitted a discussion about the link between microstructure and mechanical behaviour.

In this way, it has been proved that it is possible to control microstructure and mechanical behaviour using biotechnologic methods at the genetic level. This opens new ways for promising improvements for such material.

Finally, a model has been developed, which is simple but effective, based on a physical description of the material. This has validated the advances, made in this study, into the understanding of silk. These results are expected to encourage other numerical studies on assemblies, in order to bring a new point of view about industrial products.

Keywords: Silk, microstructure, mechanical behaviour, multiscale analysis, X-ray diffraction, Raman microextensometry, *Bombyx mori*, spider.

MINES ParisTech

ParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY