

## Reivindicaciones

1. Un método para el aislamiento y purificación de colágeno II a partir de tejido cartilaginoso que comprende:
  - a. Remover del cartílago el tejido adyacente no cartilaginoso con una herramienta cortopunzante
  - b. Cortar el cartílago en trozos de 0,2 a 2 cm<sup>3</sup>
  - c. Lavar el cartílago con una mezcla de un solvente polar en agua durante 20 a 30 horas en serie ascendente de concentración desde una concentración inicial de 50% hasta una de 100%, donde el solvente polar se selecciona de etanol, propanol, isopropanol, dimetil éter, éter etílico y acetona.
  - d. Lavar con agua por 5 a 10 horas tres veces.
  - e. Tratar el cartílago lavado con una solución de una proteasa entre 0,01 a 1% en pH 3 a 8, por 20 a 30 horas, donde la proteasa se selecciona de tripsina, papaína, pancreatina, quimotripsina A, quimotripsina B, pancreatopeptidasa B, ficina, catepsina y quimopapaina.
  - f. Homogenizar la suspensión de cartílago/enzima, con un mezclador de aspas entre 500 a 1000 rpm por 5 a 15 min.
  - g. Agitar la mezcla a 4 a 35°C por 20 a 30 horas en un agitador orbital entre 60 a 100 rpm
  - h. Centrifugar la mezcla de 3000 a 5000 rpm por 15 a 45 min
  - i. Lavar el pellet con agua por 1 a 5 horas.
  - j. Tratar el pellet con una solución de pepsina 0,01 a 1% p/v en pH 2 a 3 usando ácido acético o ácido clorhídrico, por 20 a 30 horas.
  - k. Centrifugar la mezcla de 3000 a 5000 rpm por 15 a 45 min
  - l. Lavar con agua por 5 a 10 horas tres veces.
  - m. Resuspender en ácido acético 0,25 a 0,75M en agitación por 20 a 40 horas.
  - n. Centrifugar la mezcla de 3000 a 5000 rpm por 15 a 45 min y desechar el pellet.
  - o. Adicionar al sobrenadante NaCl hasta alcanzar una concentración entre 0,5 a 1M agitando por 20 a 30 horas.
  - p. Lavar el precipitado obtenido con agua por 5 a 10 horas.
  - q. Adicionar una base fuerte hasta alcanzar un pH 4 a 6, la base fuerte se selecciona de NaOH, KOH y NH<sub>3</sub>.
  - r. Lavar con agua por 5 a 10 horas tres veces.
  - s. Resuspender el pellet en una solución ácida de 0,01 a 1 M, el ácido se selecciona entre ácido acético o ácido clorhídrico.

2. Soportes biocompatibles elaborados con colágeno tipo II de la reivindicación 1 caracterizados porque tiene una porosidad entre 93 - 98%, resistencia a la tensión 0,05 - 0.15 MPa y capacidad de absorción de agua entre 500 y 1200%.