



KARBIKASVATUSE LAHENDUSTE LOOMINE KOGU VÄÄRTUSAHELA ULATUSES

Euroopa Merendus- ja Kalandusfondi (EMKF) rakenduskava 2014-2020

meede 2.1 “Vesiviljeluse innovatsioonitoetus”

Lõpparuanne

(projekti viitenumber 821020790007)

Toetuse saaja: Tartu Ülikool (Eesti Mereinstituut)

Aruande koostajad: Jonne Kotta, Rando Tuvikene, Indrek Adler, Francisco Rafael Barboza Gonzalez, Mihhail Fetissof, Holger Jänes, Mihkel Kotta, Anneliis Kõivupuu, Sander Loite, Kelli Maldre, Helen Orav-Kotta, Henry Ots, Ilmar Kotta

Detsember 2022



Sisukord

Sissejuhatus.....	3
Projekti käigus läbiviidud tegevused.....	4
Alategevus 1: Innovatiivsete karbikasvatus-metoodikate arendamine ning olemasolevate metoodikate kohandamine Eesti olude tarbeks.....	4
Alategevus 2: Produktsioonipotentsiaali ja merekeskkonnast toitainete eemaldamise määra hindamine tööduslikes karbifarmides.....	15
Alategevus 3: Uuenduslike tehnoloogiate ja toodete arendamine (sööt, söök, kõrge lisandväärtusega komponendid) merekarpide väärindamise eesmärgil.....	28
Kokkuvõte	56
Summary	58
Hinnang tegevuse tulemuslikkusele ja elluviimisele.....	60
Projektis osalevad ettevõtted	61
Viited	61



Sissejuhatus

Käesoleval ajal tegeleb Eesti vesiviljelussektor peamiselt kalakasvatusega ning alternatiivsed, looduskeskkonda taastavad, suunad sisuliselt puuduvad. Merekarpide kasvatamist peetakse keskkonnahoidliku majanduse lipulaevaks ning selle tegevuse perspektiivikus on välja toodud mitmetes EL direktiivides ning lokaalsetes keskkonnakaitse valdkonna seadusaktides. Teadussiire karbikasvanduse valdkonnas on Eestis endiselt puudu, samas kui vetikate kasvatamises on praegu käimas kaks innovatsiooniprojekti.

Projekti “Kalakasvatuste kaudu merre suunatud lämmastiku- ja fosforikoormust kompenseerivate meetmete väljatöötamine” aruandest selgub, et keskkonnast toitaineid välja viivatest vesiviljeluse lahendustest on karbikasvatus käesoleval hetkel ainuke suund, mille puhul on meil juba praegu ette näidata Läänemere keskkonda sobivad tehnoloogilised lahendused (Tartu Ülikool, 2019a). Selleks, et need lahendused leiaksid aga praktilist kasutust, on vajalik innovatsiooni nii karbikasvatuse tehnoloogiliste lahenduste suunal kui ka merekarpide tootearenduse/väärindamise osas.

Tänu hiljuti lõppenud projektidele INTERREG Baltic Blue Growth (BBG, <https://www.submariner-network.eu/balticbluegrowth>) ja “Vesiviljeluse piirkondlike kavade koostamine võimaliku keskkonnasurve ohjamiseks” (Tartu Ülikool, 2019b) oleme juurde saanud olulist infot, mis võimaldab efektiivselt arendada karbikasvatamise suunda kogu selle väärtusahela ulatuses. Eelpoolnimetatud projektide käigus kaardistasime merealad, mis on sobilikud karbikasvatuseks. Lisaks saime teada, et Eesti rannikumeres kasvavad karbid on puhtad so. need ei sisalda keskkonnamürke sellisel määral, mis kahjustaks inimeste tervist. Farmide majandustulemuste analüüs näitas, et karbikasvatamine on Läänemeres majanduslikult tasuv. Rootsisis asuva St Anna farmi saagikuse juures (keskkonnaningimustelt sarnane Lääne-Eesti merealadele) maksab 1 kg karbi tootmine 0,52 € (investeeringud 0,35 € ja jooksvad kulud 0,17 €). Tootmismahdade suurendamisel (so. suuremate farmide rajamisel) tuleks karbifarmi kulud veelgi madalamad. Kui karpi kasutada sööda tootmiseks, on võimalik karpe edasi müüa 0,5-1,5 €/kg. Juhul kui eesmärgiks on toit ja/või toidulisandid, saaksime kasumimarginaali oluliselt kasvatada. BBG projekti toel valmisid ka esmased (veel tootearendust vajavad) retseptid, mis annavad suunised, kuidas karbiliha on võimalik kasutada eri tüüpi kala- ja/või loomasööda valmistamiseks.

Käesolev projekt suurendab oluliselt investorite usaldustunnet karbikasvanduse valdkonnas. Projekti tulemusel selguvad Eesti olude jaoks (1) perspektiivsemad karbikasvatuse tehnoloogiad, (2) karpide saagikus ja toitainete eemaldamise määr reaalsetes farmides ning (3) merekarpidest saadavad perspektiivikamad tooted (sööt, toit, kõrge lisandväärtusega komponendid) ja nende toodete valmistamiseks vajaminevad tehnoloogiad.

Kuna tegevustesse on kaasatud Eesti karbikasvatuse sektori seni ainukesed praktilise kogemusega eraettevõtjad ja juhtivad mereteadlased, siis võimaldab käesolev projekt nii teoreetiliste (mudelite abil) kui ka praktiliste tööde näol (eksperimentaalsed välimõõtmised ettevõtja farmis, toodete ja tooteliinide arendus) anda lisandväärtust uuenduslike tehnoloogiate ja toodete väljatöötamisel kogu tarneahela ulatuses so. projekt pakub tehnoloogilist innovatsiooni karbikasvatamisest suure lisandväärtusega toodete arendamiseni (kuid projekt panustab lisaks ka innovatsiooni uute ja perspektiivsete liikide kasvatamise tehnoloogiate väljaarendamisel ja vesiviljeluse koostoime võimaluste suurendamist teiste majandusvaldkondadega, nt. loomasöödade arendamine). Kokkuvõtvalt elavdab käesolev projekt karbikasvanduse kui loodussõbraliku vesiviljelussektori arengut ja erinevate vesiviljelussuundade integratsiooni Eestis.



Projekti käigus läbiviidud tegevused

Alategevus 1: Innovatiivsete karbikasvatuse-metoodikate arendamine ning olemasolevate metoodikate kohandamine Eesti olude tarbeks

Alategevuse vajalikkus

Tingituna Eesti rannikumere väikesest soolsusest on siinsete rannakarpide (*Mytilus edulis/trossulus*) maksimaalne suurus väiksem kui Läänemere lääneosas või Põhjameres. Selleks, et olla Euroopa turul konkurentsivõimeline, loome alateema raames Eesti olude tarbeks unikaalsed kasvatustehnoloogiad, mille läbi on võimalik olemasolevat konkurentsivõimet oluliselt vähendada, kasutades substraate, mis on eriti efektiivsed just väiksemõõtmeliste karpide kasvatamiseks.

Alategevuse kirjeldus

(a) Suurima karbikasvuga aladel testime eritüübiliste kasvusubstraatide (siledad ja „karvased“ köieliinid, traditsiooniline kalavõrk ja spetsiaalne karbikasvatuse võrk) ja paigutusviiside (vertikaalne ja horisontaalne paigutus ning erinevad inkubeerimissügavused) efektiivsust. Selliste tegevuste läbi on võimalik maandada taimestiku pealiskasvust tingitud riske ning samal ajal inkubeerida karpe neile sobivates kasvukohtades. Hindame erinevate kasvatamis-tehnoloogiate maksumust, tehnoloogiapõhist saagikust ja saagikorje kulusid ning selle kaudu ka meetodite majanduslikku potentsiaali.

(b) Karpide looduslikest asurkondadest toimub looduslik täiskasvanud isendite ärakanne madalamatele, tihti liivastele taimestikuvabadele merealadele. Kui karpidel ei ole võimalik kuhugi kinnituda, siis nad lõpuks lagunevad või kantakse rannikule. Projekti käigus leiame modelleerimise kaudu sellised Eesti rannikumere piirkonnad, kus täiskasvanud karbiisendite ärakanne on eriti intensiivne. Antud aladele paigutame merepõhja karpide kinnitumiseks sobivad köieliinid ja mõõdistame neil regulaarselt täiskasvanud karpide kinnitumise intensiivsust. Uurime, millistel kuudel on karbipankadelt karpide ärakanne ja suurte karbiisendite kinnitumine katseköitele suurim. Määratleme ka optimaalse köite meres hoidmise perioodi. Massiivse loodusliku karpide ärakandega aladel testime karpide korjet spetsiaalselt karpide püügiks disainitud seisevpuünisega. Metoodika eduka testimise korral saab võimalikuks karbikasvatuse kulude oluline langetamine, kuna antud tehnoloogia puhul ei ole vaja paigaldada spetsiaalseid tormi- ja talvekindlaid kasvatusteele ning merel kuluv tööaeg väheneb oluliselt. Veelgi enam, kuna saagis domineerivad mitmeaastased suuremad karbid, siis on aasta-poolteise võrra lühendatud ka inkubatsiooniaeg. Tänu sellele võimaldab projekti käigus väljatöötatud metoodika suurendada Eesti rannikumere karbikasvatuse saagikust vähemalt Lõuna-Läänemere või isegi Põhjamere tasemeni.

Ülevaade tehtud töödest

Projekti esimesel aastal paigutasime merre pikemad, suurema biomassi saamiseks mõeldud karbiliinid, et saada piisav kogus karbimassi erinevate tehnoloogiliste lahenduste efektiivsuste testimiseks. Saadud biomassi kasutati projekti järgnevatel aastatel alategevuses 3.

Lisaks testisime eritüübiliste kasvusubstraatide (siledad ja „karvased“ köieliinid, traditsiooniline kalavõrk, spetsiaalne karbikasvatuse võrk), paigutusviiside (vertikaalne ja horisontaalne paigutus) ja erinevate inkubeerimissügavuste mõju karpide saagikusele. Tegevus sisaldas katseliinide paigaldamist meres Saaremaa



põhjarannikule Tagalahte, regulaarset vaatluste läbiviimist ning kogutud proovide analüüsimist laboratooriumis (Joonised 1.1–1.2).

Viimasel ajal on ühiskonnas tähelepanu tekitanud mikroplasti sattumine merre ning selle võimalikud negatiivsed keskkonnamõjud (Kotta et al., 2022a). Sellest tulenevalt uurisime ka mikroplastivaba substraatide kasutamise võimalusi rannakarpide kasvatamisel. Kuna selliseid kasvusubstraate hetkel osta ei ole võimalik, kontakteerusime otse materjalide arendajatega ning saime ühelt arendajalt testimiseks kookosekiudest valmistatud köit ning teiselt arendajalt biolagunevat kasvusubstraati, mille puhul on leitud optimaalne tasakaal kanga funktsionaalsete ja biolagunevate omaduste vahel. Sarnaselt eelmises lõigus kirjeldatud kasvusubstraadi katsele paigaldasime sellised keskkonnasõbralikud katseliinid erinevatele sügavustele, viisime läbi katseliinide regulaarseid vaatlusi ning analüüsisime kogutud proove laboratooriumis (Joonised 1.3–1.5). Tegemist on esimese eksperimentaalse uuringuga, kus testitakse mikroplastivaba kasvusubstraadi kasutamise potentsiaali Läänemere karbifarmis.

Lisaks mõõdistati karbikasvatuse piirkonnas ja referentsalal okeanograafiliste instrumentidega selliseid füüsikalisi, keemilisi ja bioloogilisi parameetreid (vee temperatuur, soolsus, hapniku sisaldus, valguse intensiivsus, hoovuse kiirus ja suund, lainetuse intensiivsus, taimse hõljumi sisaldus), mis oluliselt mõjutavad karpide kasvukiirust uurimisalal. Selline strateegia võimaldas väga kuluefektiivselt (mõõtmisandmed katavad aastast perioodi, mõõtmiste vaheline intervall on vaid 20 minutit) saada olulisematest keskkonnaandmetest väga kvaliteetsed andmeseeriad. Okeanograafiliste instrumentidega mõõdetud andmeid kasutasime karpide kasvumudelite valideerimisel (Joonised 1.6–1.8).

Lisaks modelleerisime karpide looduslike ärakandealasi, võimaldamaks püüda rannikule uhtavaid elusaid karpe. Modelleerimistulemuste alusel planeerisime eksperimentaalalad, kuhu paigaldasime 2021. aasta maikuu merepõhja karpide kinnitumiseks sobivad köieliinid ja mõõdistasime neil regulaarselt täiskasvanud karpide kinnitumise intensiivsust. Uurisime, millistel kuudel on karbipankadelt karpide ärakanne ja suurte karbiisendite kinnitumine katseköitele suurim. Määratlesime ka optimaalse köite meres hoidmise perioodi. Lisaks testisime sellistel aladel karpide korjet spetsiaalselt karpide püügiks disainitud seisevpüünisega (Joonised 1.9–1.12). Selliseid karpidekorjeid teostasime kolmes perspektiivsemas merepiirkonnas: Küdema lahes, Vanamõisa lahes ning Lahetaguse lahes (Joonised 1.13–1.16). Vaatamata algele ootustele, et sellistel karpide ärakande aladel on oodata suurt karpide kinnitumist kasvusubstraatidele, siis me ei täheldanud kogu uurimisperioodi jooksul (mai 2021 – veebruar 2022) olulist karpide kinnitumist ja/või kandumist seisevpüünistesse. Vaid Küdema lahes õnnestus nõ. Swedish band substraati (Joonis 1.9) kasutades väga lühikese paarikuuse perioodi jooksul saada karbisaak, mille kasvatamiseks kulus Küdema lahe ja Tagalahe tingimustes umbes 3–4 aastat (Joonis 1.17). Paraku ei õnnestunud seda edulugu korrata (Joonis 1.18). Seega võib pigem järeldada, et tegemist on karpide kogumise meetodikaga, mis võib osutada edukaks vaid väga spetsiifiliste ilmastikuolude korral (teatud tugevuse- ja suunaga tuuled).



Joonis 1.1. Karbiliinide köienäidised erinevate substraatide efektiivsuse hindamiseks karbifarmides.



Joonis 1.2. Töenduslik karbifarm Tagalahes 23. septembril 2020. aastal. Kasvanduses olevad karbid on umbes pooleteise aastased.



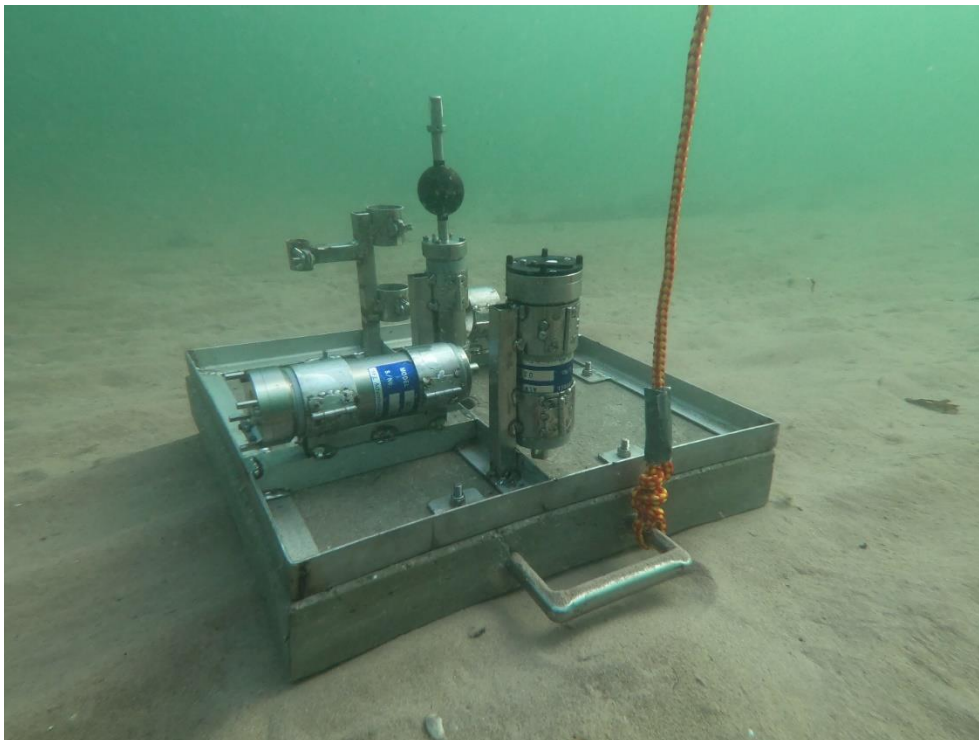
Joonis 1.3. Kookoskiust köis testimaks mikroplastivaba kasvusubstraadi kasutamise potentsiaali Tagalahe karbifarmis.



Joonis 1.4. Biolagunevast materjalist köis testimaks mikroplastivaba kasvusubstraadi kasutamise potentsiaali Tagalahe karbifarmis.



Joonis 1.5. Looduslike kasvusubstraatidele, kookoskiule ja biolagunevale materjalile kasvanud rannakarbi proovide kogumine Tagalahe karbifarmis 5. augustil 2022. aastal.



Joonis 1.6. Okeanograafilised instrumendid mõtmas Tagalahe karbifarmi põhjalähedases veekihis erinevate füüsikaliste (vee temperatuur, soolsus, hapniku sisaldus, valguse intensiivsus, hoovuse kiirus ja suund, lainetuse intensiivsus) ja bioloogiliste näitajate (taimse hõljumi sisaldus) ajalist kulgu.



Joonis 1.7. Alusandmete laadimine okeanograafilistest instrumentidest arvutisse 2021. a aprilli vältitel.



Joonis 1.8. Vältitööde läbiviimine Tagalahes 2021. a aprillis.



Joonis 1.9. Merepõhja paigaldatud köieliinid, millel mõõdistasime regulaarselt täiskasvanud karpide kinnitumise intensiivsust.

K



Joonis 1.10. Merepõhja köieliinide küljes olevad eritüübilised karbikasvatamise substraadid (nn. Swedish band), millel mõõdistasime regulaarselt täiskasvanud karpide kinnitumise intensiivsust.



Joonis 1.11. Merepõhja köieliinide küljes olevad eritüübilised karbikasvatamise substraadid (nn. Christmas tree rope), millel mõõdistasime regulaarselt täiskasvanud karpide kinnitumise intensiivsust.



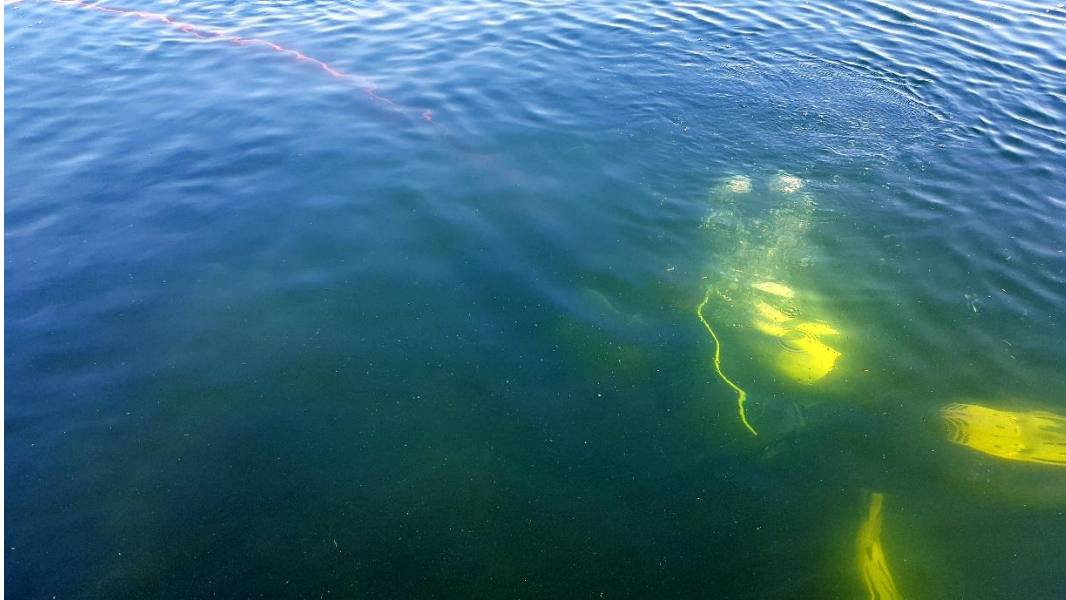
Joonis 1.12. Merepõhja köieliinide küljes olevad eritüübilised karbikasvatamise substraadid (nn. New Zealand rope), millel mõõdistasime regulaarselt täiskasvanud karpide kinnitumise intensiivsust.



Joonis 1.13. Merepõhja köieliinide ja seisevpüüniste ettevalmistamine välitöödel.



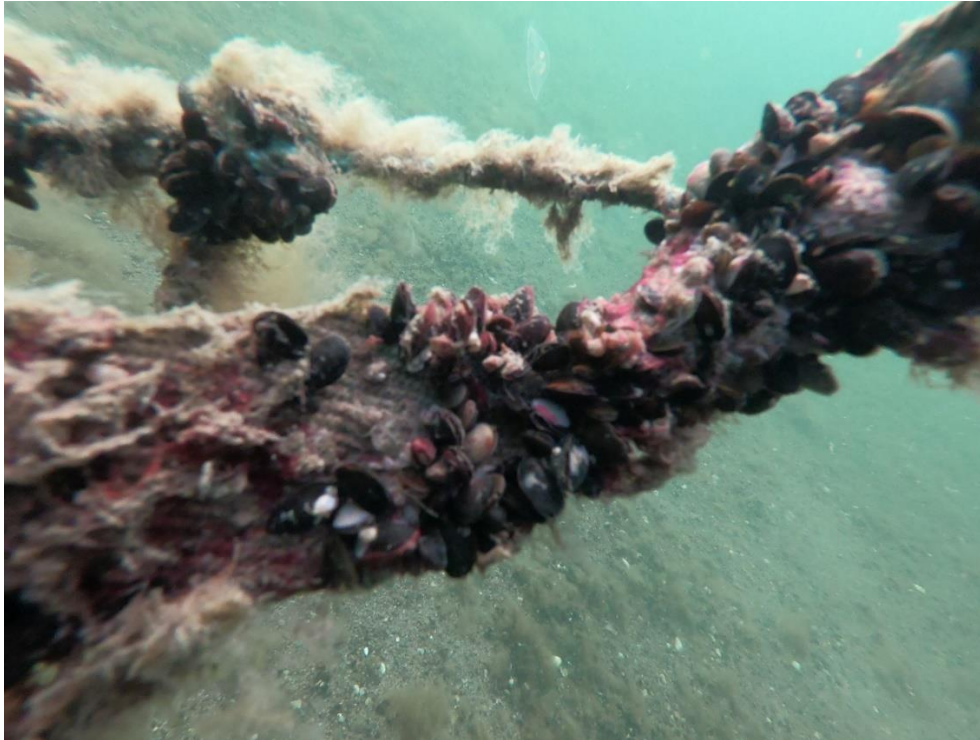
Joonis 1.14. Merepõhja köieliinide ja seisevpüüniste paigaldamine merepõhja.



Joonis 1.15. Merepõhja köieliinide ja seisevpüüniste paigaldamine merepõhja.



Joonis 1.16. Pikk ülesõit ühelt katsepolügonilt teisele.



Joonis 1.17. Edukas karbipüük Küdema lahes, kus Swedish band tüüpi substraati kasutades õnnestus paarikuuse perioodi jooksul saada karbisaak, mille kasvatamiseks kuluks Küdema lahe ja Tagalahe tingimustes umbes 3–4 aastat.



Joonis 1.18. Tüüpiline karbipüügi tulemus, mille puhul substraatide külge ja püünistesse sattusid vaid väga üksikud karbid.



Alategevus 2: Produktioonipotentsiaali ja merekeskkonnast toitainete eemaldamise määra hindamine töönduslikes karbifarmides

Alategevuse vajalikkus

Eesti rannikumeres elavate rannakarpide produktiooni on varasemalt mõõdistatud vaid eksperimentaalsetel kasvuliinidel ning senini puuduvad mõõtmised reaalses karbifarmides. Redstorm OÜ on paigaldanud Saaremaale Tagalahte karbikasvatuse liinid ning firma omab kogemusi tööndusliku karbikasvatuse kohta Eesti rannikuvetes. Loodud karbikasvatuse eesmärgiks on naabruses paikneva kalakasvatuse lämmastiku ja fosfori emissiooni kompenseerimine. Redstorm OÜ infrastruktuur võimaldas taotletava projekti käigus kaardistada reaalse karbifarmi saagikust (mis erines oluliselt varasemate piloot- ja modelleerimisuuringute käigus saadud väärtustest) ning mõõdistada sellise karbifarmi tegelikku potentsiaali merekeskkonnast toitainete eemaldamisel.

Alategevuse kirjeldus

(a) Kasutades olemasolevat oskusteavet ja toetudes Interreg Baltic Blue Growth projekti käigus väljatöötatud meetodikatele (<https://www.submariner-network.eu/balticbluegrowth>), kogusime projekti käigus erinevatesse mereosadesse paigaldatud kasvuliinidelt ja Redstorm OÜ Tagalahe karbifarmi paigaldatud erinevatelt substraatidelt regulaarselt proove, et mõõdistada karpide sesoonset produktioonipotentsiaali ja toitainete eemaldamise määra.

(b) Hindasime erinevate meetodiliste lähenemiste potentsiaali Redstorm OÜ Tagalahe karbifarmi saagikusele. Saadud tulemuste põhjal tekkis sektori jaoks keskkonna-, tehnoloogia- ja majandusalane baasinfo, mis võimaldab ettevõtjatel efektiivselt (majanduslikult tasuvalt) karbifarme luua ja neid majandada.

Ülevaade tehtud töödest

(1) Karpide kasvukiirus ja karbikasvatuse eeldatav saagikus

Interreg Baltic Blue Growth projekti poolt loodud üle-Läänemereeline mudel karbikasvatuse potentsiaalset ennustab Tagalahe piirkonda karbisaagikuseks 1,18 kg märgkaalus jooksva köiemeetri kohta (Joonis 2.1). Käesoleva projekti käigus valideerisime Baltic Blue Growth projekti mudelit Redstorm OÜ poolt Tagalahte rajatud töönduslikus karbifarmis. Selle karbikasvatuse näol on tegemist SmartFarm lahendusega, mis koosneb veepinnal ujuvast plasttorust, mille küljes ripub karbikasvatuse substraat (võrk) (Joonis 2.2).

Kogu projekti vältel kogusime Redstorm OÜ karbifarmist erinevatelt substraatidelt regulaarselt proove, et mõõdistada töönduslikus farmis karpide sesoonset produktioonipotentsiaali ja toitainete eemaldamise määra. Lisaks saime teavet, millised substraadid sobivad Eesti oludes rannakarbi kasvatamiseks kõige paremini. Üldjuhul sobivad selleks eritüübilised suurema läbimõõduga kareda pinnaga köied. Erinevate kasvuliinide testimisel saime Tagalahe farmi karbisaagikuse reaalseks määraks pooleteise-aastase kasvuperioodi jooksul traditsiooniliste substraatide kasutamisel 1,5 kg märgkaalus jooksva köiemeetri kohta (Joonis 2.3) ning umbes 20% farmialal (farmi keskosas) küündis saagikus kuni 3,0 kg märgkaaluni jooksva köiemeetri kohta. Selle perioodi jooksul oli suur osa karpe kasvanud 1,5–2 cm pikkuseks (Joonis 2.4).

Vaid pool aastat hiljem so. kaheaastase kasvutsükli möödudes olid karbid keskmiselt 2,5 cm pikkused (Joonis 2.5) ning farmi saagikus keskmiselt 2 kg märgkaalus jooksva köiemeetri kohta (Joonis 2.3). Umbes 20% farmialal (farmi keskosas) küündis saagikus kuni 4,0 kg märgkaaluni jooksva köiemeetri kohta. Kui mujal

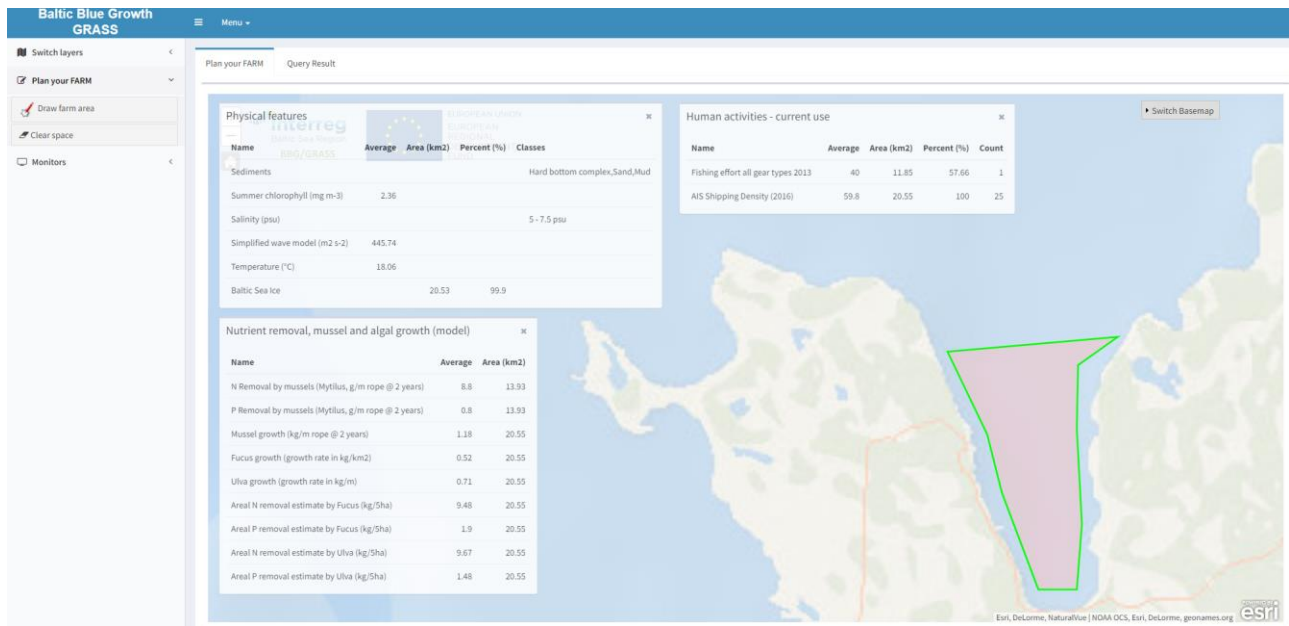
Läänemeres (Rootsi, Taani ja Saksamaa vetes) pidurdab ruumikonkurents suurvetikatega karpide kasvu pindmistes veekihtides ning suuremat karbikasvu on oodata 3–8 m sügavusvahemikus, siis Tagalahe oli karpide kasvukiirus kogu veesambas (0–6 m) ühtlaselt hea (Joonised 2.3 ja 2.4).

Karpide suur ruumiline varieeruvus farmi võrkudel on tingitud Tagalahe karbikasvatuse tehnilisest konstruktsioonist. Nimelt SmartFarm lahendus koosneb suhteliselt jäigast plasttorust ning kui plasttoru hakkab suuremate lainete tõttu vibreerima, siis pudenevad tormide ajal farmi ääresades osad karbid kasvusubstraadilt merepõhja. Kasutades vähem jäike farmikonstruktsioone ja/või kinnitusliine, on võimalik kogu farmi ulatuses saavutada kasvutsükli jooksul stabiilselt 2–3 kg saagikust jooksva köiemeetri kohta.

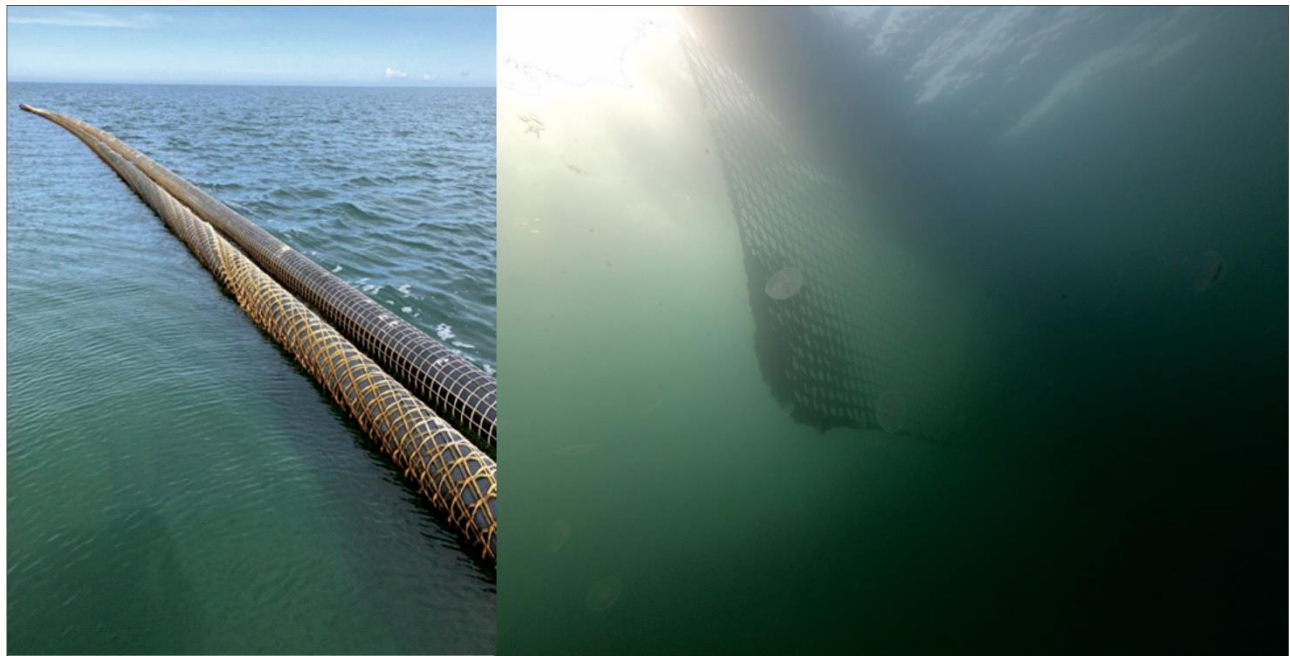
Ühe pooleteise aastase kasvutsükli jooksul kasvavad karbid Tagalahe farmis keskmiselt 2 cm pikkuseks ning 0,5 hektarilise farmi saagikus (kümme sajameetrist SmartFarm võrguliini) on hinnanguliselt 70–80 tonni karbimassi märgkaalus (Joonised 2.6 ja 2.7). Kasvutsükli pikendamisel kahe aastani võib saavutada karbifarmis umbes 100 tonnist saagikust.

Kookoskiust valmistatud köisi võib pidada väga heaks keskkondlikuks alternatiiviks karpide kasvatamisel, kuna selle lagunemisel ei vabane merre mikroplasti ning karpide kasvukiirus kookosköiel on sama, mis traditsioonilistel plastikust substraadidel. Umbes aastase inkubatsiooniperioodi jooksul oli kookosköiele kinnitunud karbid kasvanud 1 cm pikkuseks (Joonis 2.8), mis vastas karpide kasvukiirusele traditsioonilistel karbikasvatusteliinidel (Joonis 2.6). Samas teine looduslik alternatiiv, biolagunevast materjalist köis, osutus karbikasvatusel väga ebapraktiliseks, kuna sellele karpe praktiliselt ei kinnitunud. Ilmselt põhjustas vähest karpide arvu biolaguneval köiel selle välispinna liigsuur libedus.

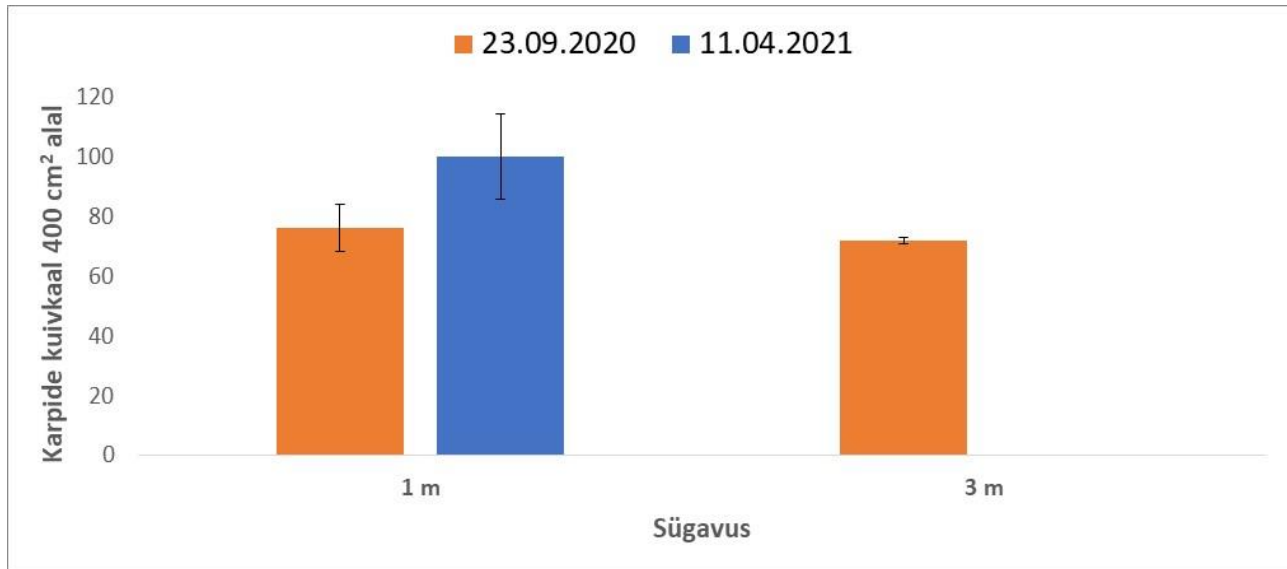
Karbifarmide saagikuse ruumilist varieeruvust rannakarbi parimates kasvukohtades modelleeriti dünaamilise energiabilansi (DEB) mudeli abil. DEB teooria lähtub termodünaamilistest energia- ja massibilansi põhimõtetest ning võimaldab meetodiliselt kaardistada ja jälgida aine ja energia liikumist ökosüsteemis (Kooijman, 2000). Uuringus kasutati juba avaldatud söödava rannakarbi mudelparameetreid (Roberts & Kooijman, 2019), mida optimeeriti, kasutades kogu Läänemere akvatooriumi hõlmavat suurt eksperimentaalset andmekogu (Kotta et al., 2020). Detailne DEB mudelarvutuste käik on välja toodud Kotta et al. (2022b). DEB mudel näitas, et karbifarmi suuremaid saagikusi on oodata Läänemere avaosas Saaremaast põhjas ja läänes. Rannakarbid kasvavad hästi ka Hiiumaast läände ja põhja jäävatel merealadel (Joonis 2.9).



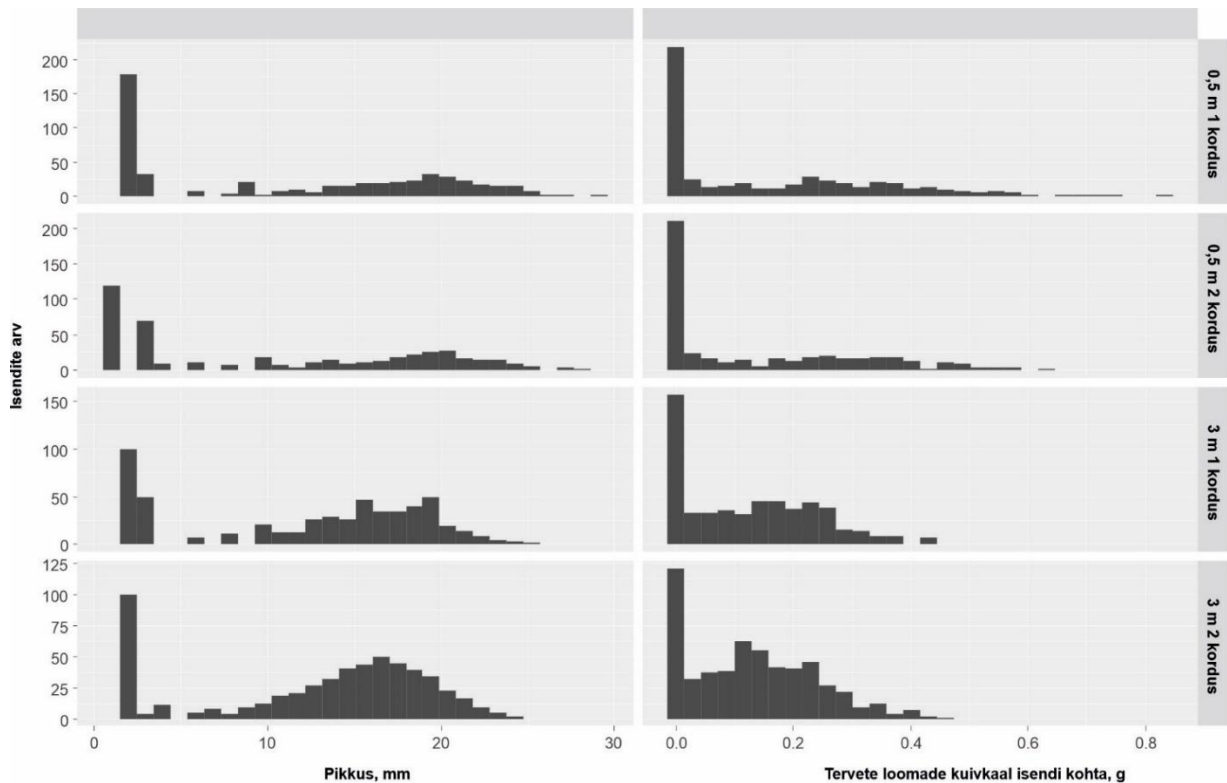
Joonis 2.1. Rannakarbi farmi eeldatav saagikus ja toitainete eemaldamise potentsiaal hinnatuna Interreg Baltic Blue Growth projekti käigus loodud karbikasvatuse mudeli alusel (mudel on avalikult kasutatav vt. <http://www.sea.ee/bbg-odss/Map/MapMain>).



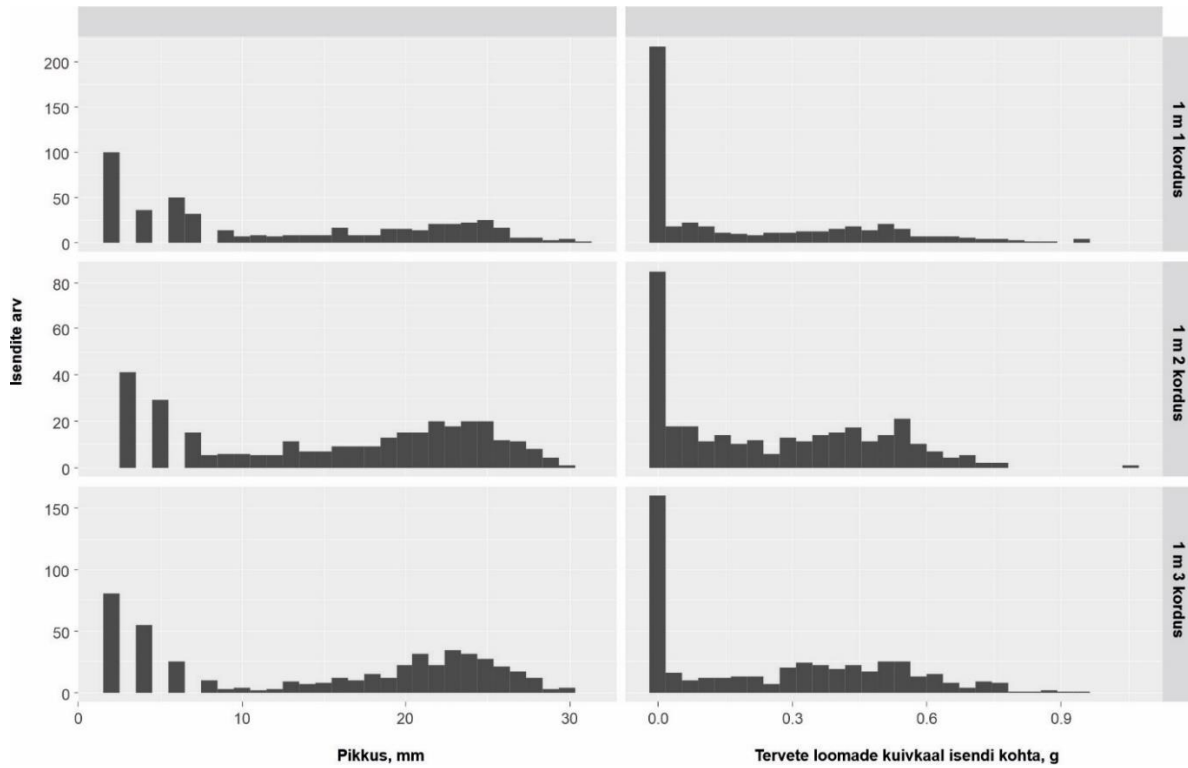
Joonis 2.2. Karbifarmi lahendus Tagalahe kasvatuses.



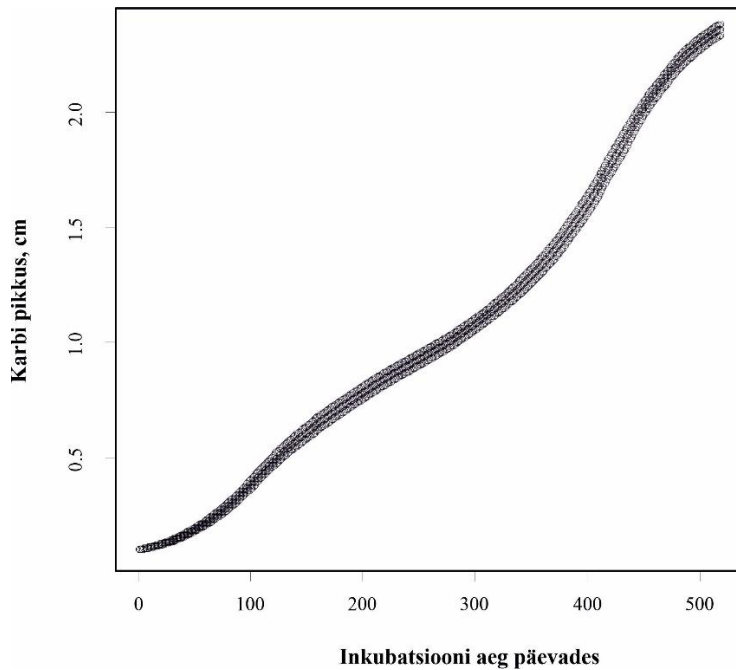
Joonis 2.3. Rannakarbikoosluse keskmine kuivkaal koos standardveaga 400 cm² alal Tagalähe karbikasvatuses erinevatel sügavustel 23. septembril 2020. aastal ja 11. aprillil 2021. aastal. 2021. aastal koguti proove vaid ühelt sügavuselt, kuna kasvukiirus oli farmi erinevates sügavustes ühtlaselt hea. 100 g kuivkaalule 400 cm² alal vastab 2 kg karbimassi märgkaalus jooksva köiemeetri kohta, seega 23. septembril oli karbifarmi keskmine saagikus 1,5 kg karbimassi märgkaalus jooksva köiemeetri kohta ning 11. aprillil 2021. aastal 2 kg karbimassi märgkaalus jooksva köiemeetri kohta.



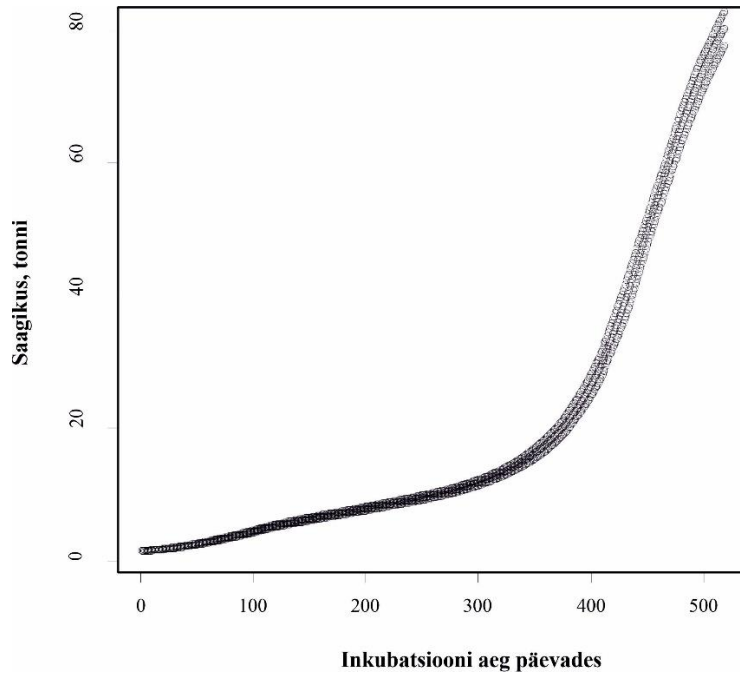
Joonis 2.4. Rannakarbi isendite pikkuseline ja kaaluline jaotus erinevates kordusproovides. Proovid koguti kahelt sügavuselt (0,5 m ja 3 m) 23. septembril 2020. aastal.



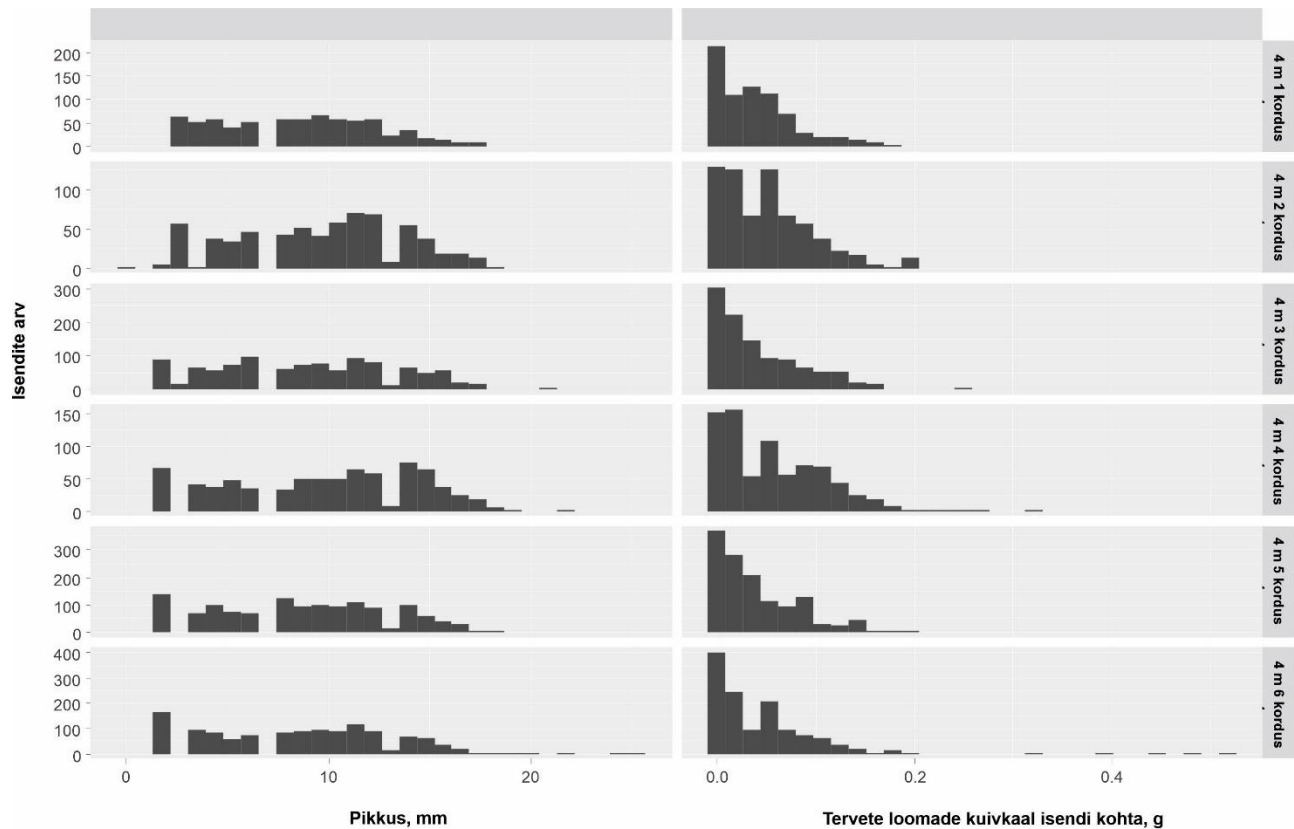
Joonis 2.5. Rannakarbi isendite pikkuseline ja kaaluline jaotus erinevates kordusproovides. Proovid koguti 11. aprillil 2021. aastal ühelt sügavuselt (1 m), kuna karpide kasvukiirus oli farmi erinevates sügavustes ühtlaselt hea.



Joonis 2.6. Rannakarpi pikkuskasv Tagalahe karbifarmis kogu kasvutsükli jooksul. Joonisel on näidatud kasvu miinimumid, keskmised ja maksimumid.

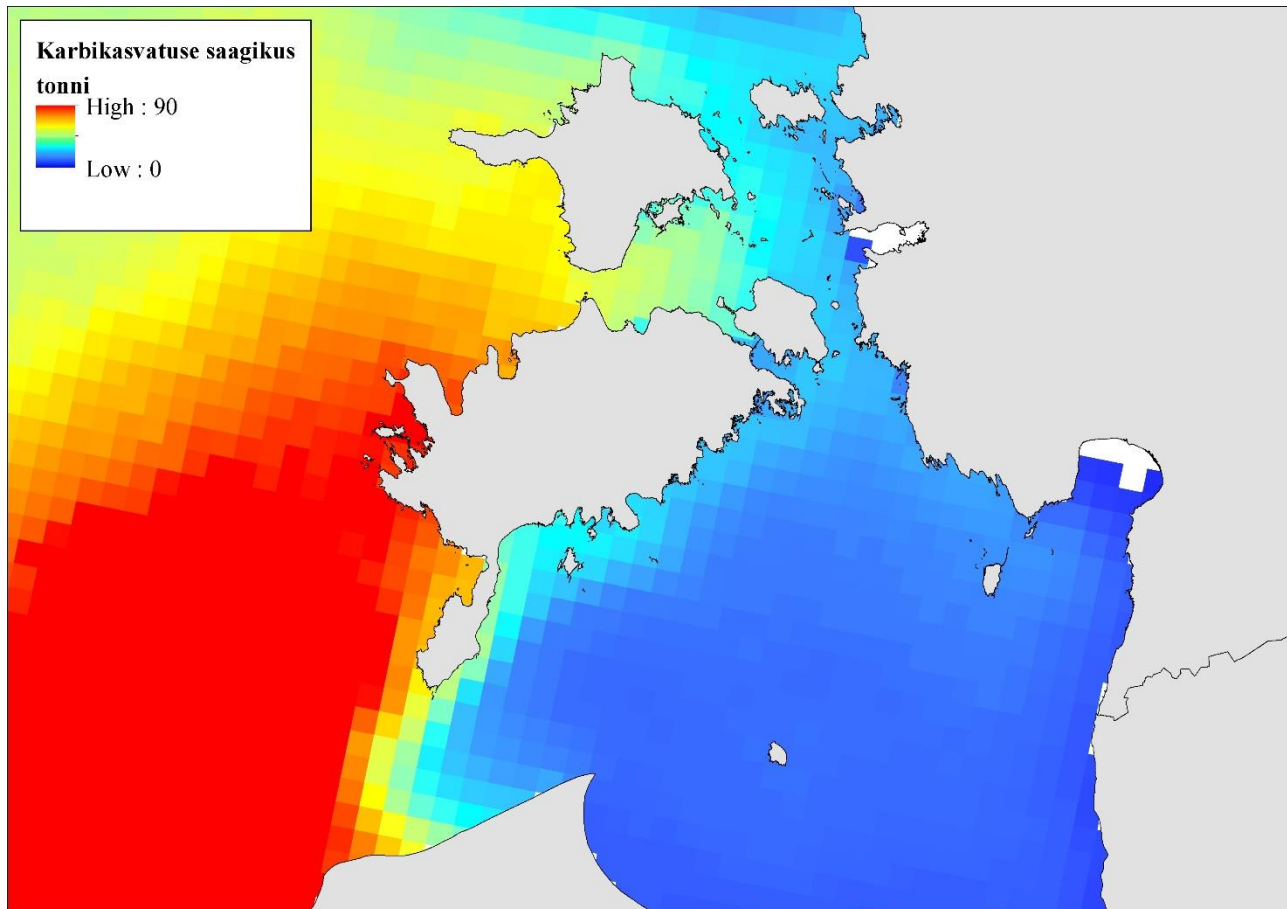


Joonis 2.7. 0,5 hektarilise Tagalahe karbifarmi saagikus (kümme sajameetrist SmartFarm võrguliini) ühe kasvutsükli kohta (poolteist aastat). Joonisel on näidatud kasvu miinimumid, keskmised ja maksimumid.



Joonis 2.8. Rannakarbi isendite pikkuseline ja kaaluline jaotus erinevates kordusproovides. Kookosköied pandi merre 25. mail 2021 ja proovid koguti kookosköielt ühelt sügavuselt (4 m) 5. augustil 2022. aastal.

Karpide kinnitumine kookoskõiele toimus 2021. aasta juuli alguses, mis teeb inkubatsioonaja kestuseks 13 kuud.



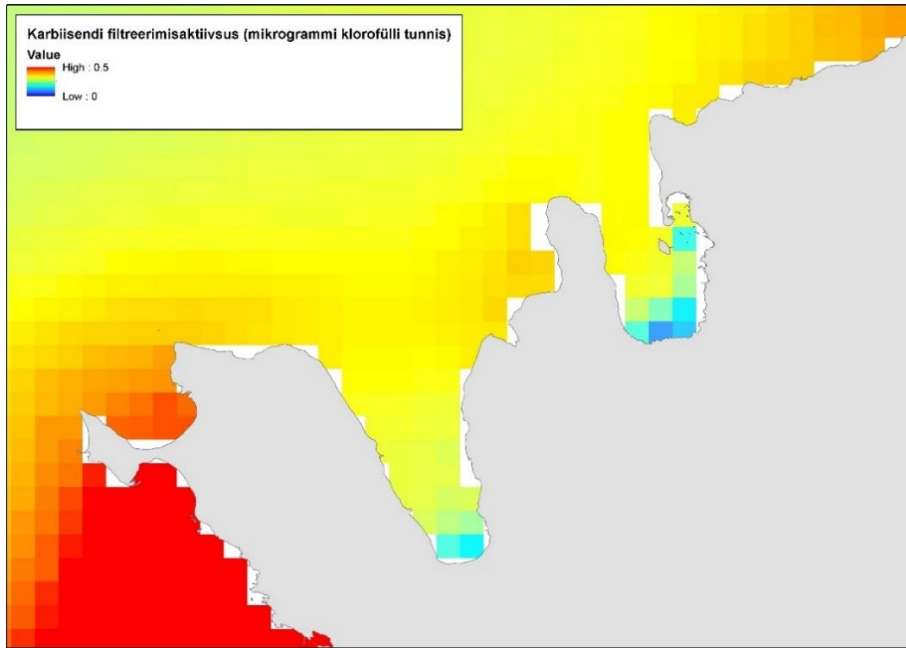
Joonis 2.9. 0,5 hektarilise karbifarmi potentsiaalne saagikus tonnides rannakarbi parimates kasvukohtades ühe kasvutsükli kohta.

(2) Karbikasvatuse keskkondlik potentsiaal hinnatuna vee filtreerimiskiiruse ja toitainete eemaldamise määra kaudu

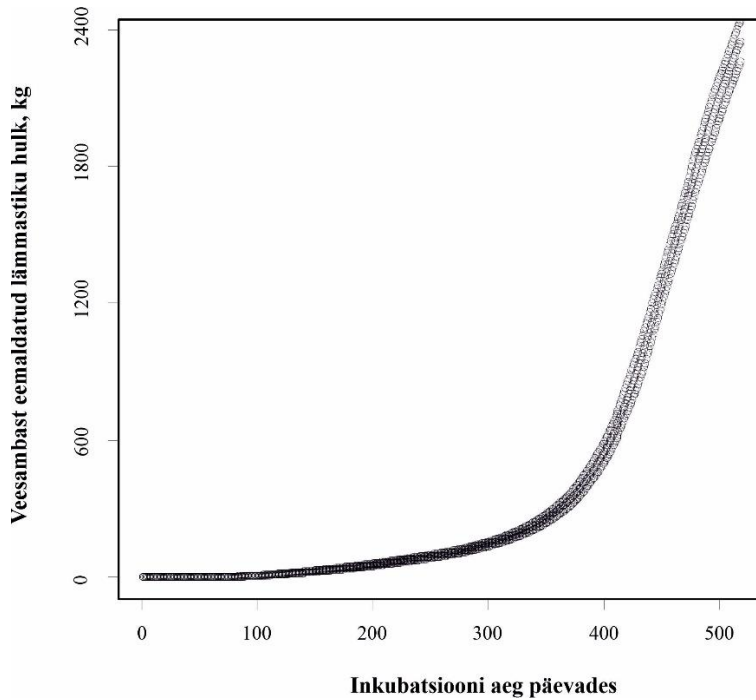
Rannakarbid toituvad taimsest hõljumist, filtreerides seda aktiivselt veest välja. Rannakarpide filtreerimispotentsiaal Tagalahe piirkonnas on väga hea. Käesoleva projekti käigus teostatud välimõõtmised näitavad, et iga karbiisend on võimeline tunnis veest välja filtreerima umbes 0,4 mikrogrammi klorofüllit (taimse hõljumi pigment). Eesti rannikumere maksimaalne karpide filtreerimisaktiivsus küündib 1 mikrogrammini klorofüllit tunnis (Joonis 2.10).

Toitainete liikumist karbikasvatuses modelleeriti samuti dünaamilise energiabilansi (DEB) mudeli abil. DEB mudelid näitasid, et üks 0,5 hektariline karbifarm eemaldab veesambast pooleteise aasta jooksul kokku 2400 kg lämmastikku ja 300 kg fosforit. Kokku ladestub 0,5 hektarilise farmi karpides kasvutsükli jooksul 750 kg lämmastikku ja 45 kg fosforit (Joonised 2.11–2.14). Seega filtreerivad karbid veesambast välja ca 3,2 korda enam lämmastikku ja 6,7 korda enam fosforit, kui ladestub nende kehades. Üldjuhul liiguvad väljafiltreeritud toitained merepõhja, kus need seotakse põhjakooslustesse ning need väljuvad pelaagilisest ringest. Sellest tulenevalt on karpide positiivne keskkondlik mõju oluliselt suurem, kui pelgalt karpidesse ladestatud

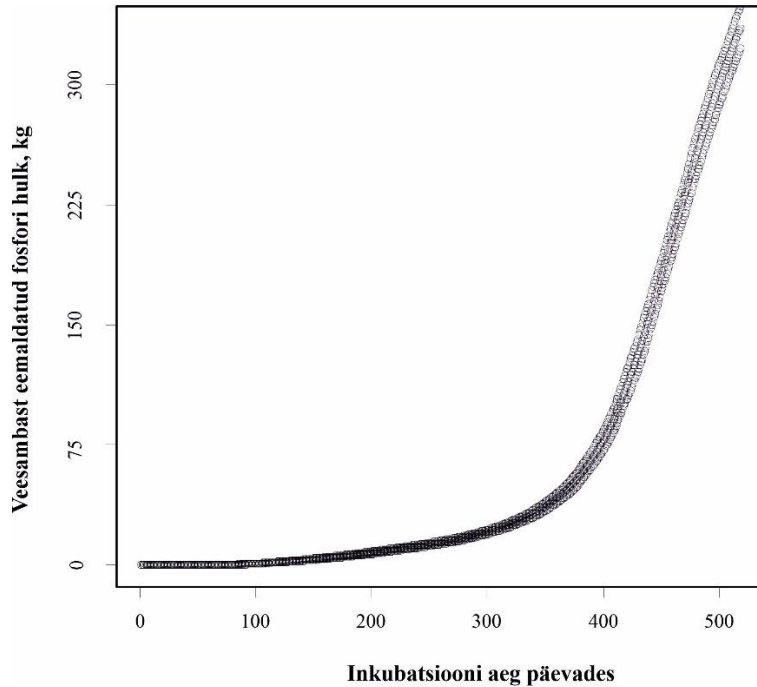
toitainete hulk. Sellest tulenevalt on ka sellistel karbikasvatusel, millelt saaki ei koristata, praktiliselt sama suur positiivne keskkondlik mõju kui nendel karbifarmidel, millest saak regulaarselt eemaldatakse.



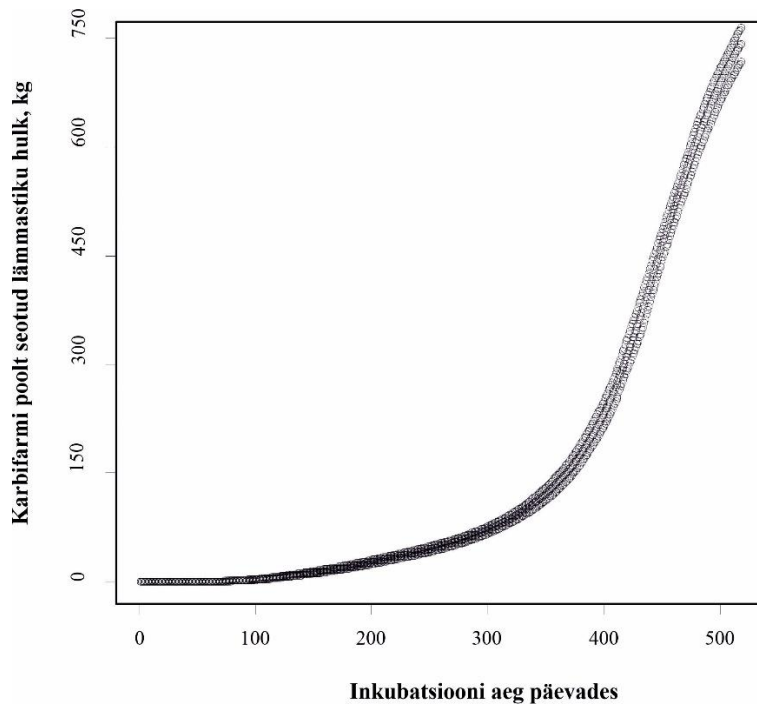
Joonis 2.10. Tagalahe piirkonna karbiisendi vee filtreerimise potentsiaal ehk veesambast eemaldatud taimse hõljumi hulk väljendatuna klorofüllis sisaldusena.



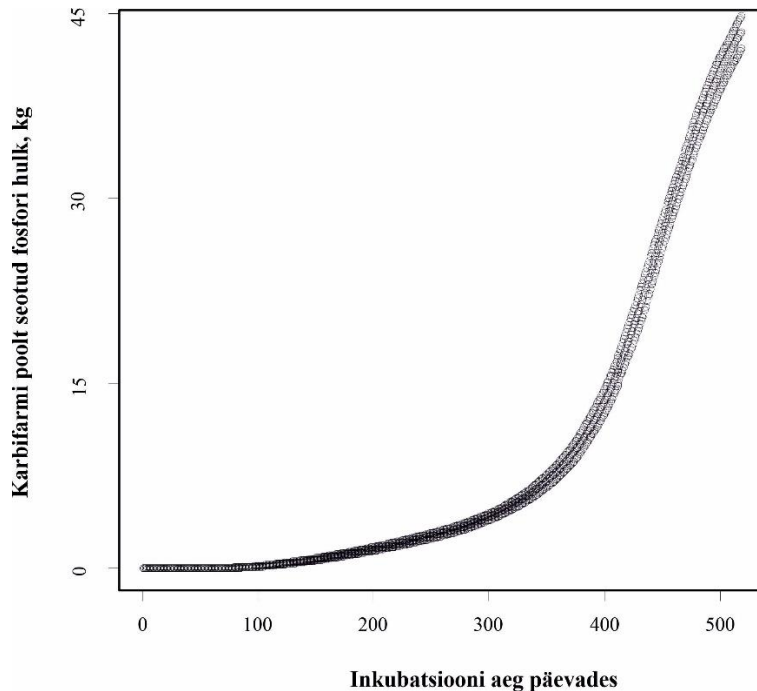
Joonis 2.11. 0,5 hektarilise Tagalahe karbifarmi poolt veesambast eemaldatud lämmastiku hulk kogu kasvutsükli jooksul. Joonisel on näidatud mõõdetud tunnuse miinimumid, keskmised ja maksimumid.



Joonis 2.12. 0,5 hektarilise Tagalahe karbifarmi poolt veesambast eemaldatud fosfori hulk kogu kasvutsükli jooksul. Joonisel on näidatud mõõdetud tunnuse miinimumid, keskmised ja maksimumid.



Joonis 2.13. 0,5 hektarilise Tagalahe karbifarmi poolt seotud lämmastiku hulk kogu kasvutsükli jooksul. Joonisel on näidatud mõõdetud tunnuse miinimumid, keskmised ja maksimumid.



Joonis 2.14. 0,5 hektarilise Tagalahe karbifarmi poolt seotud fosfori hulk kogu kasvutsükli jooksul. Joonisel on näidatud mõõdetud tunnuse miinimumid, keskmised ja maksimumid.

(3) Karbikasvatuse majanduslik potentsiaal hinnatuna Tagalahe kasvatuse näitel

Projekti toel kogutud alusandmete põhjal lõime üldistatud majandusmudeli, mis võimaldab analüüsida rannakarpide kasvatamise väärtusahelat Lääne-Eesti rannikumere tingimustes. Arvutusmudeli lähteparameetreid on võimalik muuta, hindamaks parameetrite otsest mõju karbifarmi varalisele väärtusele. Andmed pärinevad käesoleva projekti raames tehtud eksperimentaaltöödel ja uuringutel, valdavalt Tagalahes asuva karbikasvatuse näitel.

Allpooltoodud analüüsis näidatud alginvesteering sisaldab investeeringuid põhivarasse ja muid kulusid sh. kogu perioodi tööjõukulu ja kütusekulu (Tabel 2.1). Eeldatud on, et köiesüsteem, erilahendusega paat amortiseerub 20 aastaga ja muu inventar 10 aastaga. Arvestades suhteliselt väikest jooksvate tegevuste mahtu on selline eeldus võrdlemisi realistlik. Kuludes sisalduvad ka investeeringud külmutamise ja selle jaoks vajalik kütus/energia ja töötunnid. Hetkel ei kajastu siin pakendamis-, turundus-, müügi- ja logistikakulud ning kulutused kasvatuse rajamiseks vajalike lubade hankimiseks. Tasuvuskalkulatsioonides oli kasutatud 5% diskontomäär, mis Eestis kontekstis ei ole hetkel päris realistlik, arvestades, et ka olemasolevad vesiviljelusettevõtted kaasavad oma põhitegevuse jaoks raha suurema intressiga aastas.

Käesoleval hetkel puudub Eestis kasvatatud väiksemõõdulistele rannakarpidele turg. Sellest tulenevalt panime käesolevas analüüsis toodangu hinna väga madalaks, 200 eurot tonni kohta. Vaatamata sellele kujuneb rannakarbi kasvatamine majanduslikult mõttekaks tegevuseks (Tabel 2.2). Tegevuse kasumlikkuse määravadki ära peamiselt kaks faktorit, karbifarmi saagikus ja saagi kokkuostu hind. Nende kahe tunnuse maksimeerimisel on võimalik karbikasvatamise tulubaasi oluliselt kasvatada.

Inimtoiduks tervete karpide müümiseks peaks karbi suurus ületama 4 cm ning selliste karpide müügihinnaks kujuneb tavaliselt 700–2500 eurot tonni kohta. Kuna Läänemere regioonis kasvavad karbid ca 1–3 cm suuruseks, siis need sobivad kasutamiseks näiteks söödana või väetiseks. Söödakvaliteediga karpe ostetakse

hinnaga kuni 500–600 eurot tonni kohta. Juhul kui me kasutame samas majandusmudelis karbi hinna sisendparameetrina 500 eurot tonni kohta, suureneb karbikasvatuse kasumlikkus 11,6 korda.

Loomulikult ei ole ettevõtjal mõistlik piirduda vaid 0,5 hektarilisi karbifarmiga, vaid karpe tuleks kasvatada suuremal pindalal. Taani ettevõtjad on välja arvanud, et majanduslikult mõttekas karbikasvatuse lahendus võiks olla vähemalt 10 korda suurem, et tagada ettevõttele piisav tulubaas ning toimida sõltumatult riiklikest toetustest. Suuremate ettevõtmiste puhul on ka investeeringu kulu farmiühiku kohta oluliselt väiksem. Näiteks Wittrup Seafood ettevõtte (<https://www.wittrup-seafood.dk/en/about-us/>) on 2023. aastal merre installeerimas 120 sajameetrist SmartFarm tüüpi karbikasvatuse liini ning sellise investeeringu maksumuseks kujunes 920.000 eur (info saadud otse ettevõtjalt). Sarnane investeering Eestisse oleks juba kohalikke tööjõukulusid arvestades oluliselt väiksem. Juhul kui sarnane farm rajatakse sobivasse karbikasvatuse piirkonda Eestis, oleks võimalik selliselt lahenduselt minimaalselt tulu teenida pool miljonit eurot (arvestades karpide kokkuostu hinnaks vaid 200 eurot tonni kohta). Juhul, kui karpe on võimalik müüa kallima hinnaga ja/või plaanis on toodangut vääridada, suureneb tulubaas oluliselt.

Samas ei ole mõistlik kvaliteetseid karpe pelgalt söödana kasutada, vaid on majanduslikult mõttekam neid vääridada inimtoiduks. Alateema 3 (vt. järmine peatükk) kirjeldabki rannakarpide vääridamist inimtoiduks ning toob välja ühe võimaliku tootmisprotsessi, mille käigus suudetakse võrdlemisi väikese energiakuluga karbimassist proteiinipulbrit toota. Selliselt tootel on potentsiaalselt väga suur hulk rakendusi ning vastavalt valitud rakendusele kujuneb tootele ka hind. Juhul kui ettevõtja panustab nii rannakarpide kasvatamisse kui ka nende vääridamisse on võimalik saavutada hoopis suuremat majanduslikku kasumlikkust, kui vaid karpe kasvatades.

Tabel 2.1. Rannakarpide kasvatamise (0,5 ha farmi) väärtusahela majandusmudeli sisendparameetrid.

Sisendparameetrid	Väärtus
Karbifarmi saagikus (t märgkaalu saagi kohta)	100
Hind (eurodes tonni märgkaalu kohta)	200
Inflatsioonimäär	1.02
Farmi tegevuskulud (eurodes aastas)	10000
Farmi investeerimiskulud olulisse infrastruktuuri (eurodes)	50000
Farmi investeerimiskulud muudesse varadesse (eurodes)	15000
Investeerimiskulu (oluline infrastruktuur) eeldatav eluiga (aastad)	20
Investeerimiskulu (muu põhivara) eeldatav eluiga (aastad)	10
Intressimäär	0.05

Tabel 2.2. Rannakarpide kasvatamise (0,5 ha farmi) väärtusahela mudelarvutuse tulemused – ressursi rent ja karbifarmi varaline väärtus (eurodes).

Farmi eluiga investeringuna infrastruktuuri (aastad)	Farmi eluiga muu investeringuna (aastad)	Ressursi rent (eurodes)	Karbifarmi summaarne varaline väärtus (eurodes)
0	0	-739	43439
1	1	-93	
2	2	555	
3	3	1206	
4	4	1861	
5	5	2517	
6	6	3177	
7	7	3840	
8	8	4506	
9	9	5175	
10	0	2523	
11	1	3258	
12	2	3996	
13	3	4738	
14	4	5483	
15	5	6232	
16	6	6984	
17	7	7740	
18	8	8500	
19	9	9263	

Samas ei tohi ära unustada, et karbikasvatuse väärtus ei seisne vaid karbimassi tootmises. Keskkonnahoiu vaatest võimaldavad karbikasvatused siduda veest liigseid toitaineid ehk pakuvad ökosüsteemi hüve selle mõiste kitsamas tähenduses. Näiteks Tagalahe karbikasvatuse all ja kõrval olevad meriheina aasad on palju paremas seisundis, kui karbikasvatusest eemal paiknevad aasad, meriheina taimedel on vähem pealiskasvu ning taimede kasv on kiirem (Joonis 2.14). See on tingitud sellest, et karbid filtreerivad veesambast välja suures koguses taimset hõljumit, mille tagajärjel paraneb vee läbipaisvus ja meriheina kasvutingimused. Veelgi enam, karbikasvatuste rajamine võimaldab arendada ka teisi vesiviljelussuundi. Näiteks multitroofne vesiviljelussüsteem, milles kultiveeritakse merekarpe ja kalu, võimaldab hoida neto toitainete emissiooni merre nullilähedasena. Kõikide nende suundade kohta on võimalik läbi viia majandusliku mõju analüüse, kuid sellised analüüsid on väljaspool käesoleva uuringu teemat.

Olemasolevate näidete põhjal on selge, et karpide kasvatamine ainult sööda tootmist silmas pidades on karbikasvatuse potentsiaali alakasutamine. Kõige perspektiivsem on karbikasvatust Eestis arendada kahes suunas. Esiteks on mõistlik karpide toota kõrgema lisandväärtusega tooteid, näiteks vääridada seda inimtoiduks (vt. järgmise peatüki tulemusi). Teine (kuid eelmist arengut mitte välistav) võimalus on, et karbikasvatuse põhifookus jääb karpide toitainete sidumise võimele ning kalakasvatuse negatiivsete keskkonnamõjude kompenseerimisele. Sellele kujuneb välja turuhind, mis siis sisuliselt hakkaks lõpptarbija vaatest kajastuma sumbas kasvatatud kala hinnas. Juhul kui kala- ja karbikasvatatajad asuvad tegema aktiivset koostööd, on võimalik kalakasvatatajatel maandada karbikasvatuse võimalikke riske (tegemist on siiski Eesti mõistes väga uue tegevusvaldkonnaga) ning selle kaudu võimendada karbikasvatuse sektori arengut Eestis.



Joonis 2.14. Tagalahe karbifarmi all paiknev meriheina kooslus 10. mail 2022. aastal.



Alategevus 3: Uuenduslike tehnoloogiate ja toodete arendamine (sööt, söök, kõrge lisandväärtusega komponendid) merekarpide väärindamise eesmärgil

Alategevuse vajalikkus

Uuenduslike toodete ja tootmisliinide arendamine on väga oluline komponent uute liikide kasvatamise ja turustamise vahel, kuna hetkel puuduvad Eestis oskused, kuidas kasvatusliinidelt kogutud karpe võimalikult efektiivselt kasutada. Eestis kasvatatud rannakarbid on mõõtmelt suhteliselt väikesed, mistõttu on vajalik välja arendada meie oludele sobivad meetodid karbimassist erinevate keemiliste ühendite profileerimiseks ja ekstrahheerimiseks lõpptoote väärindamise eesmärgil.

Alategevuse kirjeldus

Projekti käigus keskendusime tootearendusele ja toorme väärindamisele, kuna kasvatatud karpidele oli vaja leida praktiline väljund. Tegelesime paralleelselt kolme suunaga:

(a) inimtoidu lahenduste väljaarendamine (sh. toidulisandid proteiinipulbri näol),

(b) söödaretseptide arendamine (kala- ja loomasööt),

(c) uued suure lisandväärtusega toodete arendamine (nt. valgufraktsiooni rafineerimine, õli eraldamine).

Selle alategevuse all panustasime ka turustamise suunas kasvatades inimeste teadlikkust jätkusuutlike vesiviljeluslahenduste osas ning suunates neid tarbima erinevaid merekarbitooteid (vt. väikest valikut erinevatest esitlustest ajakirjades, raadios ja televisioonis^{1,2,3,4,5,6}). GRASS projekti küsitlusest selgus, et Eesti inimesed soovivad suures plaanis juba praegu keskkonnateadlikult tarbida ning siit tulenevalt ka merekeskkonna tooteid oma toidulaual rohkem näha (GRASS projekti 2020. aasta küsitlus <https://www.submariner-network.eu/grass>).

Ülevaade tehtud töödest

Uurisime karpide keemilist koosseisu ning erinevate fraktsioonide kasutusvõimalusi kõrge lisandväärtusega toodete valmistamisel (nt. söödalised, prebiootikumid), kombineerides erinevaid ekstraheerimise tehnikaid ning optimeerides karbimassi töötlemise protsesse. Lisaks uurisime eri tehnoloogiatega kasvatatud karpide sobivust erinevate toodete valmistamisel (toit, sööt, kõrge lisandväärtusega komponendid).

Selleks kasutasime rannakarbi toorme (toorete, keedetud, kül- ja kuumkuivatatud karpide) peal erinevaid jahvatustehnikaid ning töötasime välja erinevaid valgumassi lahustamise meetodikaid. Selleks kasutasime muuhulgas ka toiduainetööstuses laialt kasutatavaid ensüüme. Esitame välja töötatud spetsiifilised meetodikad ning nende meetodikate rakendamisel piloottootmisliinil saadud perspektiivsemad tulemused.

¹ https://issuu.com/ajakirimeremees/docs/meremees_nr_316_issuu_1

² <https://vikerraadio.err.ee/1608656845/jonne-kotta-merekarbikasvatus-aitab-laanemerd-puhastada>

³ <https://leht.postimees.ee/7178033/regionaalareng-jonne-kotta-sander-loite-rannakarbibikasvatus-puhastab-laanemerd>

⁴ <https://loodusveeb.ee/en/node/7045>

⁵ <https://arhiiv.err.ee/vaata/uudishimu-tippkeskus-kuidas-muuta-lehkav-laanemeri-kullaauguks>

⁶ <https://arhiiv.err.ee/vaata/ringvaade-2277-374746>



Analüüsimetoodikad

(1) Rannakarbi biomassi käitlemine

Puhastamine ja säilitamine

Kasvatusest korjatud värsked rannakarbid loputati toatemperatuuril oleva mageda jooksva kraaniveega ja seejärel nõrutati. Puhastatud rannakarbid säilitati sõltuvalt vajadusest kas -20 °C või -80 °C juures.

Kuivatamine

Külmkuivatus – värskest puhastatud ja nõrutatud ning seejärel külmutatud biomassi kuivatamine lüofiliseerimise teel kuni konstantse kaaluni.

Kuuma õhuga kuivatus – värskest puhastatud ja nõrutatud biomassi kuivatamine õhktermostaadis 60 °C juures 24 h.

Rannakarbi biomassi purustamine ja homogeniseerimine

Rannakarpide purustamiseks ja homogeniseerimiseks kasutati kahte varianti, kruviveskit ja blenderit. Mõlema variandi puhul kasutati ülessulatatud rannakarbi biomassi ning ülessulatatud ja seejärel keedetud (5 min) rannakarbi biomassi. Segud valmistati ühest osast karpidest ja kolmest osast veest ning seejärel karbid purustati ja homogeniseeriti 2 minuti jooksul. Järgnes kodadepuru selitamine ja lihahomogenisaadi dekanteerimine.

Suspensiooni kuivjäägi määramine

Suspensiooni kuivjäägi määramiseks pipeteeriti eelnevalt kaalutud Petri tassile 10 ml karbisuspensiooni ja kuivatati see 60°C juures 24 tunni jooksul. Seejärel registreeriti jäägi mass. Teostati 2 paralleelkatset.

Rannakarpide ja vedeliku vahekorra optimeerimine proteiinekstrakti valmistamiseks

Uuriti puhastamata toorete rannakarpide ja vee erinevaid vahekordi (1 mahuosa rannakarpe ning 2, 3 või 4 mahuosa vett) blenderiga purustamiseks. Karbid purustati koos veega blenderis (Philips HR3652, 1400W) 2 minuti jooksul täisvõimsusel. Homogenisaadil lasti seista 2 minutit, selle möödumisel valati suspensiooni pealmine osa (ilma purustatud kodadeta) 1000 ml mõõtsilindrisse (kõrgus 45 cm, sisediameeter 6,3 cm) ning lasti proovidel settida 1, 5 ja 15 minutit. Ettenähtud aja möödumisel võeti silindri ülemisest kolmandikust pipetiga 50 ml proov.

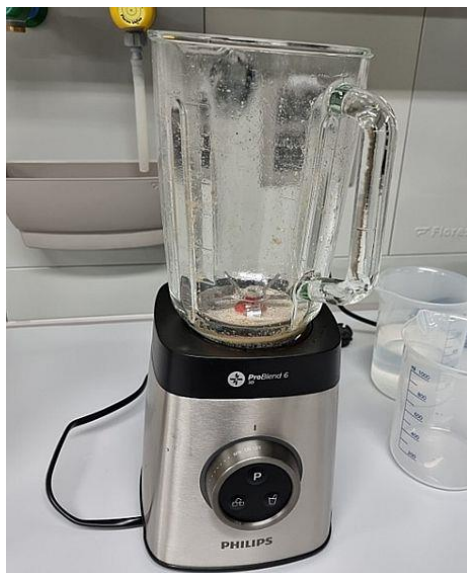
Blenderiga homogeniseeritud rannakarbi biomassi fraktsioneerimine settimise kaudu

Blenderiga (Philips HR3652; Joonis 3.1) homogeniseerimiseks (5 min maksimumpööretel) kasutati pestud värsket rannakarpi, millest üks osa homogeniseeriti toatemperatuuril ning teine osa peale 5 min keetmist. Mahuliselt kasutati blenderis 1 osa rannakarbi kohta 2 osa vett (Joonis 3.2):

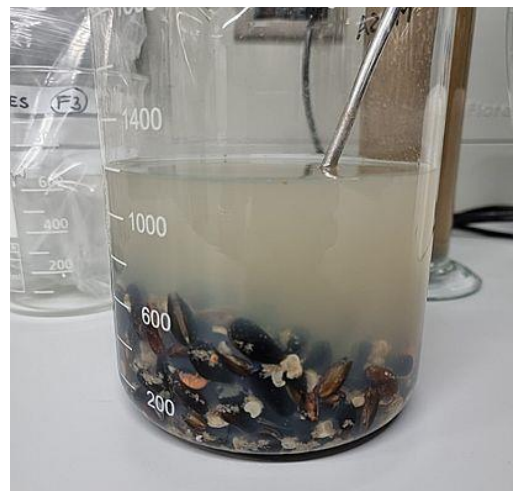
1) 500 ml (~288 g) toorele rannakarbi massile lisati 1000 ml toasooja (22 °C) demineraliseeritud vett;

2) 500 ml (~292 g) toorele rannakarbi massile lisati 1000 ml keevat demineraliseeritud vett, karpe keedeti 5 min ja jahutati seejärel jäävannis.

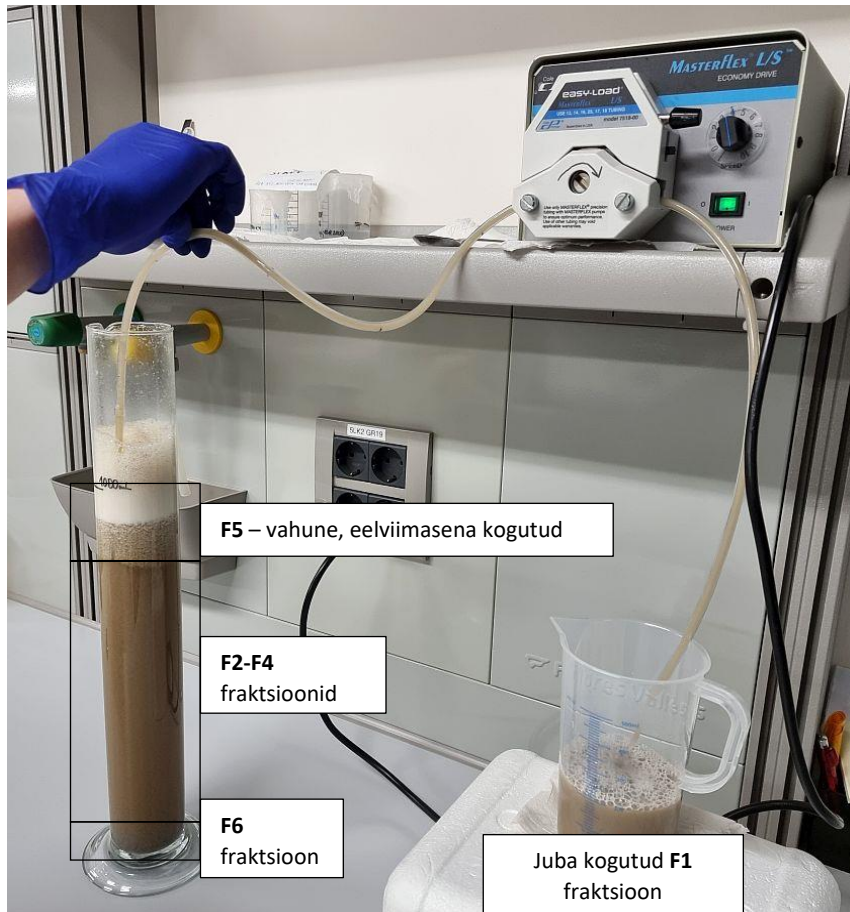
Saadud homogeniseeritud segu valati 1000 ml suurusesse mõõtesilindrisse ja lasti seista 2 minutit. Seejärel koguti peristaltilise pumba abil 200 mL kaupa fraktsioonid, alustades ülemisest. Kõige viimase fraktsioonina koguti silindri põhja settinud purustatud karbikojad. Fraktsioonid **F1...F6** koguti 1 minuti jooksul, alustades ülemistest kihtidest (st. **F1** tähistab kõige ülemist fraktsiooni, välja arvatud massiivse vahukihi korral, mil vaht koguti eelviimase fraktsioonina; Joonis 3.3). Saadud fraktsioonide kuivainesisaldused määrati eraldi võetud umbes 50 g suurustest segukogustest lüofiliseerimise teel.



Joonis 3.1. Rannakarbi biomassi homogeniseerimiseks kasutatud blender (Philips HR3652, 1400W).



Joonis 3.2. Rannakarbi biomass kahekordses ruumalakoguses vees.



Joonis 3.3. Rannakarpide blenderiga homogeniseeritud segust fraktsioonide kogumine.

(2) Valgusisalduse ja valkude hüdrolüüsi efektiivsuse määramine

Proteiini sisalduse määramine Bradfordi meetodil

Proteiini sisaldus määrati spektrofotomeetriliselt Bradfordi meetodil. Selleks lahjendati proov nii, et selle proteiini sisaldus jääks vahemikku 0,1–1,4 mg/ml. 900 µl lahjendatud proovile lisati 900 µl Bradfordi reagenti (Sigma-Aldrich B6916) ning 25 minuti möödudes mõõdeti lahuse neelduvus lainepikkusel 595 nm. Kalibreerimiseks kasutati 0,01–1,4 mg/ml BSA. Iga proovi puhul viidi läbi 2 paralleelmõõtmist.

Valkude hüdrolüüsi efektiivsuse hindamine OPA (o-ftaaldialdehüüdi) meetodil

Meetod mõõdab lahuses esinevate vabade aminohapete hulka ja peptiide, mistõttu võimaldab hinnata valkude hüdrolüüsi efektiivsust.

Valkude hüdrolüüsi efektiivsuse hindamine TNBS (trinitrobenseensulfoonhappe) meetodil

Meetod mõõdab lahuses esinevate vabade aminohapete hulka ja peptiide, mistõttu võimaldab hinnata valkude hüdrolüüsi efektiivsust. Ei sobi kasutamiseks vabasid amiine sisaldavate puhvritega (nt TRIS-glütsiin).

(3) Kaltsiumioonide sisalduse määramine kompleksomeetrilise tiitrimise meetodil

Kaltsiumi sisaldus määrati kompleksomeetrilise tiitrimise meetodil otse ilma eeltöötlemata proovist, tiitrides uuritavaid proove EDTA lahusega kasutades indikaatorina Patton ja Reederi indikaatorit. Iga proovi puhul viidi läbi 6 paralleelkatset.

(4) Ensüümtöötlus ja ultrafiltratsiooni tehnika lihahomogenisaatide puhastamiseks

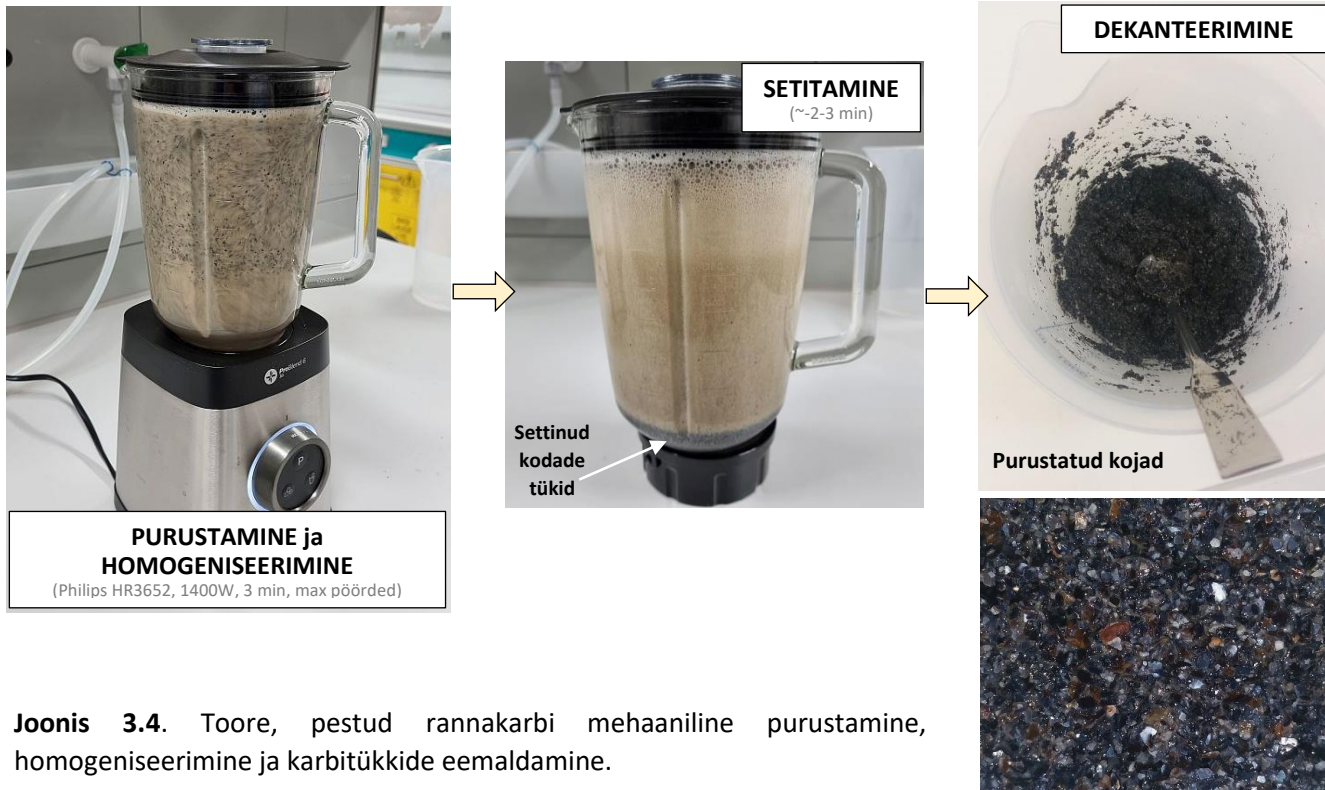
Karbiliha ensümolüüsiks leiti optimaalseimad parameetrid (Tabel 3.1) valkude ja aminohapete vabastamiseks kõnealusest biomassist. Ensümaatilise töötamise efektiivsust hinnati peamiselt OPA (o-ftaalialdehüüdi) meetodil.

Tabel 3.1. Ensümolüüsiks kasutatud ensüümid ja parameetrid (puhver, keskkonna pH ja temperatuur).

Ensüüm	Puhver	Puhvri pH	Temperatuur, °C
<i>Bacillus sp. proteaas</i>	100 mM Tris-HCl	9,7	50
Pankreatiin	100 mM fosfaatpuhver	7,4	37
Papaiin	100 mM Tris-HCl	7,1	50
Pepsiin	20 mM HCl	2,2	37
<i>Bacillus licheniformis proteaas (P5459)</i>	100 mM Tris-HCl	9,7	50
<i>Aspergillus melleus proteaas</i>	100 mM fosfaatpuhver	7,4	37
<i>Rhizopus sp. proteaas</i>	100 mM glütsiin-HCl	7,4	37
<i>Bacillus licheniformis proteaas (P4860)</i>	100 mM fosfaatpuhver	7,4	50
<i>Bacillus amyloliquefaciens proteaas</i>	100 mM fosfaatpuhver	7,4	50

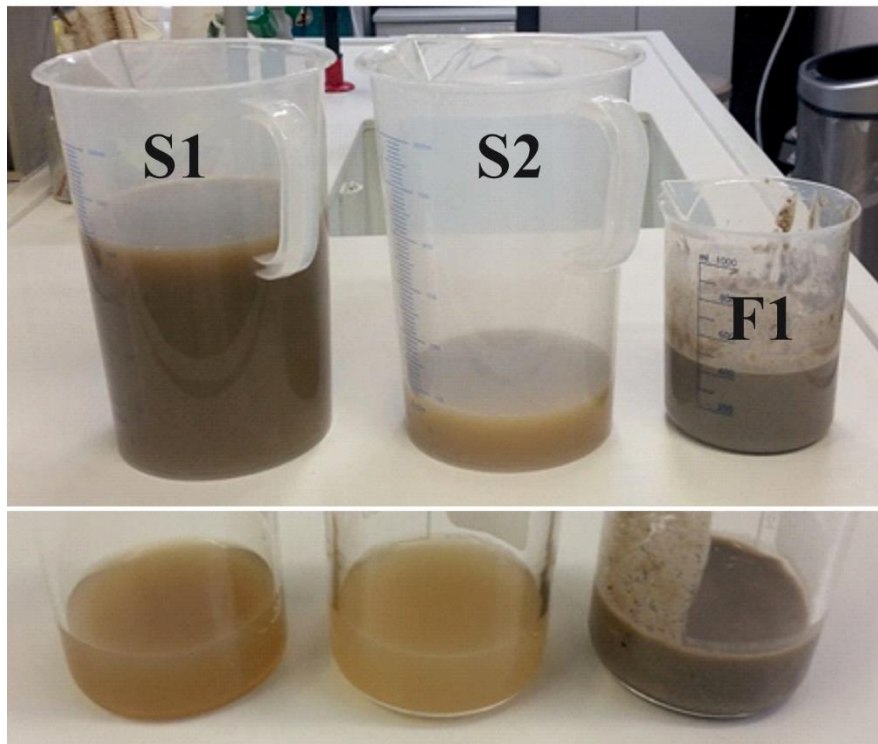
Ensümolüüsi jaoks kasutati rannakarbibiomassi homogenisaati, mille valmistamiseks kasutati 1 kg kraaniveega pestud rannakarpe ja sellele lisatud 1,8 kg vett; segu homogeniseeriti blenderiga 3 min maksimumpöoretel (Joonis 3.4). Homogeniseeritud karbimassil lasti paar minutit settida, seejärel dekanteeriti ülemine kodadevaene liharikas osa. Purustatud sadenenud kojad hoiustati eraldi.

Dekanteeritud vedeliku täiendavaks puhastamiseks tahketest osistest tsentrifuugiti seda umbes 300 g suurustes kogustes 4500 G juures 5 minutit. Fuugijääk ja supernatant (**S1**) eraldati üksteisest. Fuugijäägile lisati pesuks kahekordses massikoguses vett, segati ühtlaseks massiks ja tsentrifuugiti samadel parameetritel uuesti. Saadud fuugijääk ja supernatant (**S2**) eraldati üksteisest. Fuugijäägile lisati vett, et tekiks selle 50% (w/w) lahendus (**F1**) (Joonis 3.5). Fraktsioonid külmutati ja hoiustati edasisteks töötlusteks ja analüüsideks -20 °C juures.



Joonis 3.4. Toore, pestud rannakarbi mehaaniline purustamine, homogeniseerimine ja karbitükkide eemaldamine.

TSENTRIFUUGIMINE
5 min, 4500 rcf



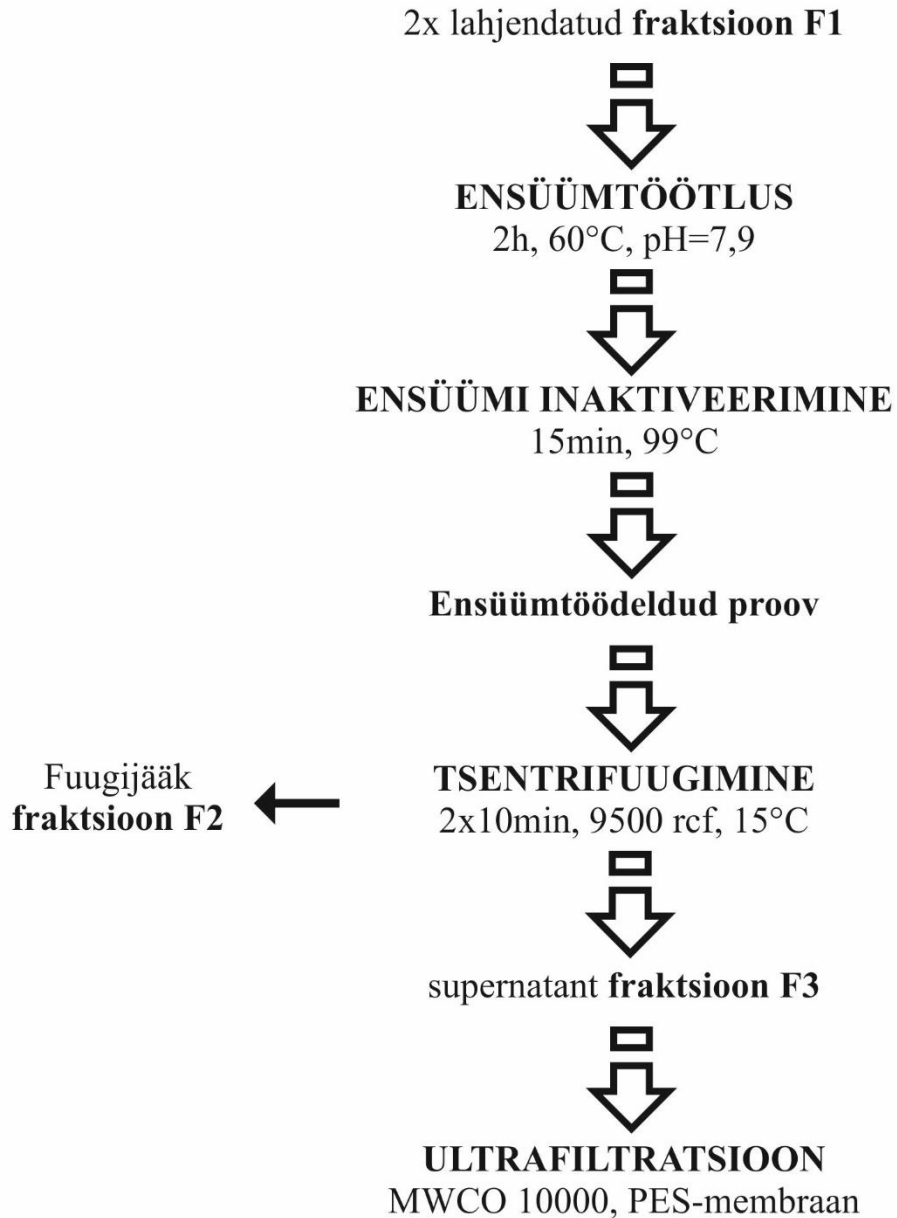
Joonis 3.5. Rannakarbi purustatud massi dekanteeritud osa fraktsioonid (S1, S2 ja F1) peale tsentrifugimist.



Fraktsioonile **F1** teostati ensümaatilise hüdrolyüsi, kuna see fraktsioon sisaldab palju vee lahustumatuid liha- ja karbikojatükikesi, mida on üksteisest keeruline eraldada. Lihatükikeste ensümaatiliseks tötluseks valiti välja aluselises keskkonnas toimiv proteaas bakterist *Bacillus licheniformis* (www.sigma.com tootekood P4860; tuntud ka brändinime all Alcalase), mis hüdrolyüsib valgu eelkõige väiksemateks peptiidideks mitte aminohapeteks (st. hüdrolyüsiaadile kibeda maitse tekkimise tõenäosus on väiksem).

Fraktsiooni **F1** lahjendati enne proteaasi (1%) lisamist veel kord samasuguses massiosas veega (Joonis 3.6). Reaktsioonisegu (pH ~7,9) hoiti 2 tundi 60 °C juures vesivannis magnetsegajal. Ensüüm inaktiveeriti 99 °C juures vesivannil 15 min jooksul. Inaktiveeritud jahutatud proovi tsentrifuugiti 2 × 10 min 15 °C juures pöõretel 9500 G. Fuugijääk (**F2**) ja supernatant (**S3**) koguti eraldi.

Ensüümtöõtluse etapis tekkinud fraktsiooni **S3** puhastati ultrafiltratsioonitehnikaga. Selleks kasutati VivaFlow200 PES-membraani 10 000 MWCO. Proovi ruumala vähendati membraaniga 14,5 korda, seejärel pesti retentaati 13-kordse demineraliseeritud vee kogusega („UF-Filtraat“ ja „UF-Retentaat“).



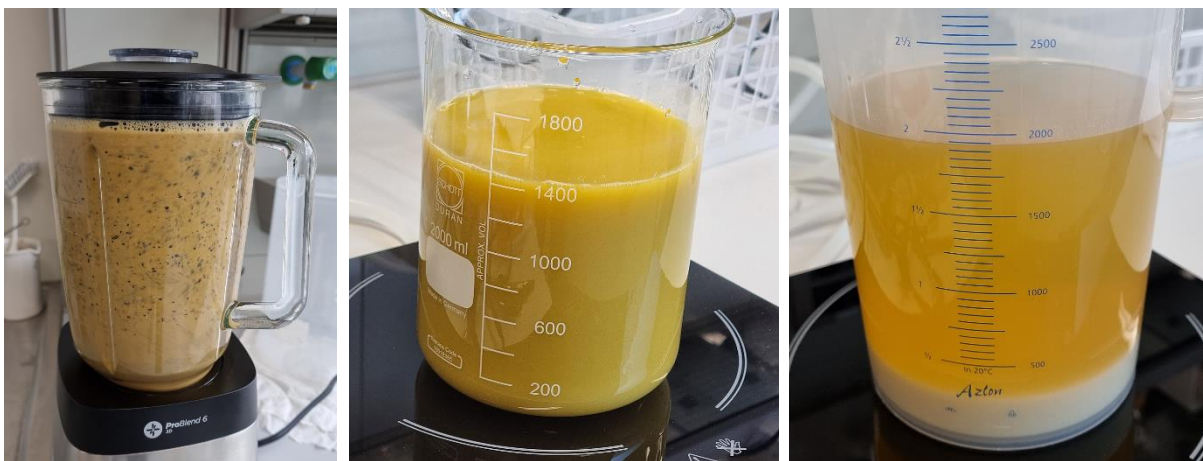
Joonis 3.6. Rannakarbi fraktsiooni F1 ensüümtöötus ja ultrafiltratsioon.

Määrati tekkinud fraktsioonide pH ning kuivaine- ja tuhasisaldused. Tuhasuste vahe 550 °C ja 950 °C juures tuhastamisel näitab karbonaatide olemasolu – mida suurem on nende kahe näitaja vahe, seda rohkem on proovis karbonaatseid ühendeid. Ensüümtötluse tulemusena tekkinud fraktsioonide puhul hinnati ka OPA-meetodi kaudu lahuses esinevate vabade aminohapete ja/või peptiide olemasolu.

Rannakarbi biomassi koostises ja vabade aminohapete sisalduste hindamiseks optimeeriti gaasikromatograafilist meetodit kombineerituna massispektromeetrilise detekteerimisega. Meetodi väljatöötamisel kasutati Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra gaasikromatograafi süsteemi (GC) koos massidetektoriga (MS) ning ränitaidisega kapillaarkoloni Supelco SLB-5ms (20 m x 0,18 mm, kihi paksus 0,18 µm). Proovide ettevalmistamiseks kasutati erinevate kontsentratsioonidega soolhappega töötusi erinevatel temperatuuridel ja erinevate reaktsiooniaegade jooksul. Proovide sisestamiseks GC-süsteemi kasutati eeltötlust ka orgaanilistes lahustites (diklorometaanis, atsetonitrilil).

(5) Rannakarbi lahustuva valgufraktsiooni rafineerimine

1600 ml (1 kg) rannakarbi biomassile (kogutud juulis 2022) lisati 1 liiter vett ning keedeti 10 min. Võrdluskatse teostati ka keetmata biomassiga. Keedetud või keetmata biomass homogeniseeriti blenderiga 1 min, saadud segu jahutati kiiresti 4 °C juurde ning tsentrifuugiti sel temperatuuril 10 min 12 000 x g juures. Supernatandile lisati kolmekordne mahuosa 96% etanooli, misjärel valguline komponent sadenes seismisel 2 h jooksul (Joonis 3.7). Saadud sade kuivatati lüofiliseerimise teel. Protsessi tulemusel saadi rannakarbi valgufraktsiooni rafineeritud preparaadid R-1 (keetmata biomassi baasil) ja R-2 (keedetud biomassi baasil).



(a)

(b)

(c)

Joonis 3.7. Rannakarbi rafineeritud lahustuva fraktsiooni saamise etapid: (a) biomassi homogeniseerimine, (b) lahustunud valgufraktsioon suspendeerunult vee ja etanooli segus, (c) rafineeritud valgufraktsioon peale settimist.

(6) Rannakarbi õli eraldamine ja analüüs

Selleks, et eraldada õli rannakarbi kogubiomassist (karbikojad ja -liha) homogeniseeriti 300 g värsked rannakarpe (kogutud oktoobris 2022) blenderis (Philips HR3652, 1400W) 1 minuti jooksul, vett täiendavalt juurde ei lisatud. Homogeniseeritud rannakarbi massile lisati 100 ml metanooli ja 200 ml kloroformi, loksutati tugevalt ning sonikeeriti 30 minutit ultrahelivannis (pulse režiimis) temperatuuril 40 °C. Seejärel lisati segusse 125 ml 2% NaCl vesilahust ning 125 ml kloroformi ja loksutati tugevalt. Segu tsentrifuugiti 20 °C ja 17 000 x g juures metallist tsentrifuugitopsides 10 minutit, kloroformi sisaldav kiht viidi eelnevalt kaalutud ümarkolbi

ning solvent aurutati vaakumis rotatsioonaurutil 35 °C juures. Õli sisaldav kolb kaaluti, saadi 1,2 g tumepruuni värvusega rannakarbi õli (Joonis 3.8).

Rannakarbi lihamassist õli ekstraheerimisel kasutati lüofiliseeritud rannakarbi biomassist eraldatud lihakomponenti, mis jahvatati kuulveskis (Retsch CryoMill). 0,3 g jahvatatud liha asetati klaasist katseklaasi ja lisati 1 ml metanooli ning 2 ml kloroformi. Saadud suspensiooni loksutati intensiivselt 1,5 minutit ning järgnevalt inkubeeriti ultrahelivannis 40 °C juures 30 minutit. Seejärel lisati 1,25 ml 2% NaCl vesilahust ja 1,25 ml kloroformi ning loksutati tugevalt. Proov tsentrifuugiti 20 °C ja 1700 x g juures 20 minutit ja kloroformikiht viidi klaasist Pasteuri pipeti abil eelnevalt kaalutud ekstraktsioonituubi. Ekstraktsiooni korrati täiendavalt 2 ml kloroformi kogusega ning eraldatud kloroformi sisaldavad faasid kombineeriti. Kombineeritud proov kuivatati 30 °C juures lämmastikuvoolus, proovi kuivmass väljendati õli protsendilise sisaldusena analüüsiks võetud lüofiliseeritud lihapulbri suhtes.



Joonis 3.8. Rannakarbi kogubiomassist eraldatud õli.

(7) Rannakarbi rasvhapete analüüs

Rasvhapete sisalduste tuvastamiseks gaasikromatograafilisel meetodil valmistati õlis esinevates rasvhapetest nende metüülestrid. Selleks kaaluti klaasist katseklaasi ligikaudu 0,05 g rannakarbi õli ning lisati 1,5 ml 5% väävelhappe lahust metanoolis. Segu kuumutati 50 °C juures vesivannil 1 tundi, seejuures iga 15 minuti järel õrnalt loksutades. Ettenähtud aja möödudes jahutati tuubid jäävannil, lisati 1 ml vett ja 1,5 ml heksaani, loksutati tugevalt ning lasti kihistuda. Ülemine, heksaani sisaldav kiht viidi klaasist Pasteuri pipeti abil klaasist viaali, solvent aurutati lämmastikuvoolus ning seejärel lisati 1 ml heksaani.

Rasvhapete sisaldused derivatiseeritud õliproovides tuvastati Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra gaasikromatograafi süsteemi abil, mis oli varustatud massispektromeetrilise detektori ja kapillaarkolonniga Phenomenex Zebron ZB-5MS (30 m x 0,25 mm, kihipaksus 0,25 µm). Kandegaasiks oli heelium voolukiirusel 30 cm/s, sisestusseadme temperatuur 280 °C, detektori töötemperatuur 325 °C, ioonallikas opereeris 300 °C juures. Skaneeriti vahemik $m/z = 25-500$, proov sisestati *split* režiimis (jaotusvool 100), proovi ruumala oli 1 µl. Analüüsi vältel tõsteti kolonni temperatuuri 160 °C juurest 260 °C juurde (2,5 °C/min), seejärel 5 °C/min 298 °C juurde ja hoiti sellel temperatuuril 15 minutit. Tulemused esitati massiprotsendina kogu identifitseeritud rasvhapete hulga suhtes. Rasvhapped identifitseeriti kasutades standardite segu 38 FAME Mix (Supelco CRM47885).



(8) Rannakarbi aminohapete analüüs

Proovi ettevalmistus vabade aminohapete määramiseks

0,05 g lüofiliseeritud lihapreparaati asetati katseklaasi, lisati 1,5 ml 0,1 M HCl vesilahust ning loksutati temoloksutajas 1400 rpm ja 25 °C juures 5 minutit. Segu tsentrifugeeriti 21000 x g juures temperatuuril 4 °C 15 minutit ning saadud supernatanti analüüsiti GC-MS meetodil.

Proovi ettevalmistus seotud aminohapete määramiseks

0,02 g lüofiliseeritud lihapreparaati hüdrolüüsiti hermeetiliselt suletud rõhku taluvates katseklaasides 120 °C juures 15 h 2 ml 6 M HCl vesilahuses. Hüdrolüüsitud proov kuivatati lämmastikuvoolus 95 °C juures ning lahustati 2 ml vees.

Aminohapete gaasikromatograafiline analüüs

100 µl kogusele aminohapete sisaldavale lahusele lisati 250 µl atsetonitriili, loksutati tugevalt ja tsentrifugeeriti 3 minutit 21000 x g juures. 100 µl supernatanti viidi kuumuskindlasse hermeetiliselt suletavasse Eppendorf tuubi ning proov aurutati lämmastikuvoolus 30 °C juures kuivaks. Seejärel lisati 50 µl diklorometaani, loksutati ning solvent aurutati taaskord lämmastikuvoolus. Kuivatatud proovile lisati 100 µl derivatiseerivat reagenti (MTBSTFA, Supelco 77626) ning 100 µl atsetonitriili ja loksutati. Saadud segu kuumutati 1 tund 100 °C juures, seejärel tsentrifugeeriti temperatuuril 4 °C 15 min 21000 x g juures ning viidi 200 µl mahuga proovivialli. Vialis olev proov tsentrifugeeriti 5 minutit 2000 rpm ning derivatiseeritud aminohapped kvantifitseeriti GC-MS meetodil.

Kvantifitseerimiseks kasutati Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra gaasikromatograafi, mis oli varustatud massidetektori ning kapillaarkolonniga Phenomenex Zebron ZB-5MS (30 m x 0,25 mm, kihipaksus 0,25 µm). Kandegaasina kasutatava heeliumi voolukiirus oli 1 ml/min, proovi sisestusseade töötas 280 °C juures, MS detektor 325 °C jaioonallikas 300 °C juures. Skaneeringute vahemik oli m/z = 25–500, proov sisestati *split* režiimis (jaotusvool 100), proovi ruumala 0,5 µl. Analüüsi vältel hoiti kolonni 2 min 100 °C juures, seejärel tõsteti 5 °C/min 298 °C juurde ning hoiti seal 25 minutit. Aminohapped kvantifitseeriti analüütiliste standardite (Supelco A6407, A6282) abil.

Tulemused

(1) Rannakarbi biomassi koostis

Rannakarbifarmist kogutud kuivkaalus biomass koosnes uurimisperiodil keskmiselt umbes 90% ulatuses rannakarpidest ning 10% ulatuses tõruvähkidest. Muude fraktsioonide osatähtsus saagis oli tühine (Tabel 3.2). Erinevatel aegadel (septembris 2020.a, novembris 2021.a, juulis ja oktoobris 2022.a) kogutud rannakarbi pestud ja nõrutatud biomassi kuivainesisaldused jäid vahemikku 35–53%. Tõruvähkide kuivainesisalduseks oli 46–52%.

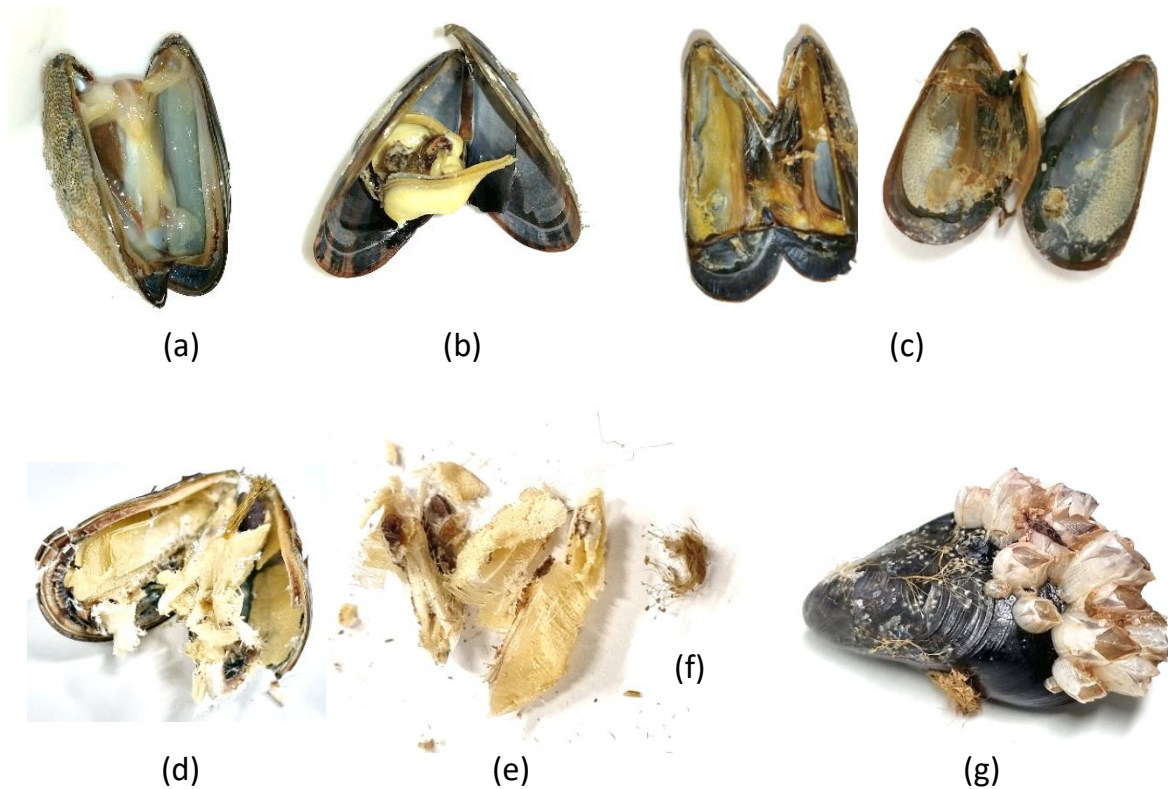
Tabel 3.2. Lüofiliseeritud rannakarbi biomassi keskmine koostis (150 ml, 125 rannakarpi) 2020. aasta septembrikuu korjest.

Fraktsioon	Kaal, g	Osakaal, %
Terved karbid	29,6	78,5
Katkised karbid	3,4	9,0
Tõruvähid	3,8	10,1
Vetikad	0,2	0,5
Peenfraktsioon (liiv)	0,6	1,6
Kirpvähid	0,1	0,3
KOKKU	37,7	100

Rannakarbi liha osakaalu hinnati lüofiliseeritud biomassist liha mehaanilise eraldamise teel. See võimaldab lihakomponendi tõhusamat eraldamist kui värske biomassi puhul (Joonis 3.9). Kõige lihtsamaks osutus liha eraldamine keedetud karpide biomassist, sest kuumtöötlemisega kaasnes kojapoolmete avanemine ning liha osaline eraldumine kodadest. Samas eralduvad keetmise käigus lihas esinevad komponendid (sh osa rasvadest), mistõttu liha ja kodade osakaalude selgitamiseks ei ole keedetud biomassi kasutamine sobiv variant. Ahjus kuivatatud biomassi puhul ei olnud liha eraldamine võimalik, sest see moodustas kuivades kodade seintele kleepunud õhukese, raskesti eraldatava kihi. Lisaks tuvastati karbi biomassi küljest sellega tugevasti seondunud kookoskiust nõõri jäänuseid ning tõruvähke.

Oluline on märkida, et Läänemere tingimustes kasvanud söödava rannakarbi biomass on töenduslikult kasutatav vaid tervikuna (st koos kõigi selles esinevate teiste liikide ja võõrosistega). Sellest tulenevalt tuleks vaatluse alla võtta ka teised selles sisalduvad orgaanilise aine rikkad komponendid ja hinnata nende osakaalu ja potentsiaalset mõju biomassist saadavate preparaatide keemilisele koostisele. Enim võivad rannakarbi lihafraktsioonide, valgupreparaatide ja õli koostist mõjutada biomassis esinevad tõruvähid.

Liha osakaal söödava rannakarbi kuivmassis jäi vahemikku 13–30%, tõruvähkide puhul oli see näitaja 10–12% (Tabel 3.3, Joonised 3.10. ja 3.11). Kui sügisel kogutud rannakarbi biomassis jäi liha osakaal 13–16% juurde, siis suvise korje puhul oli see näitaja märkimisväärselt kõrgem, küündides 30% juurde. Rannakarbi liha suurem osakaal suvise korje puhul tuleneb otseselt selle kõrgemast õlisisaldusest.

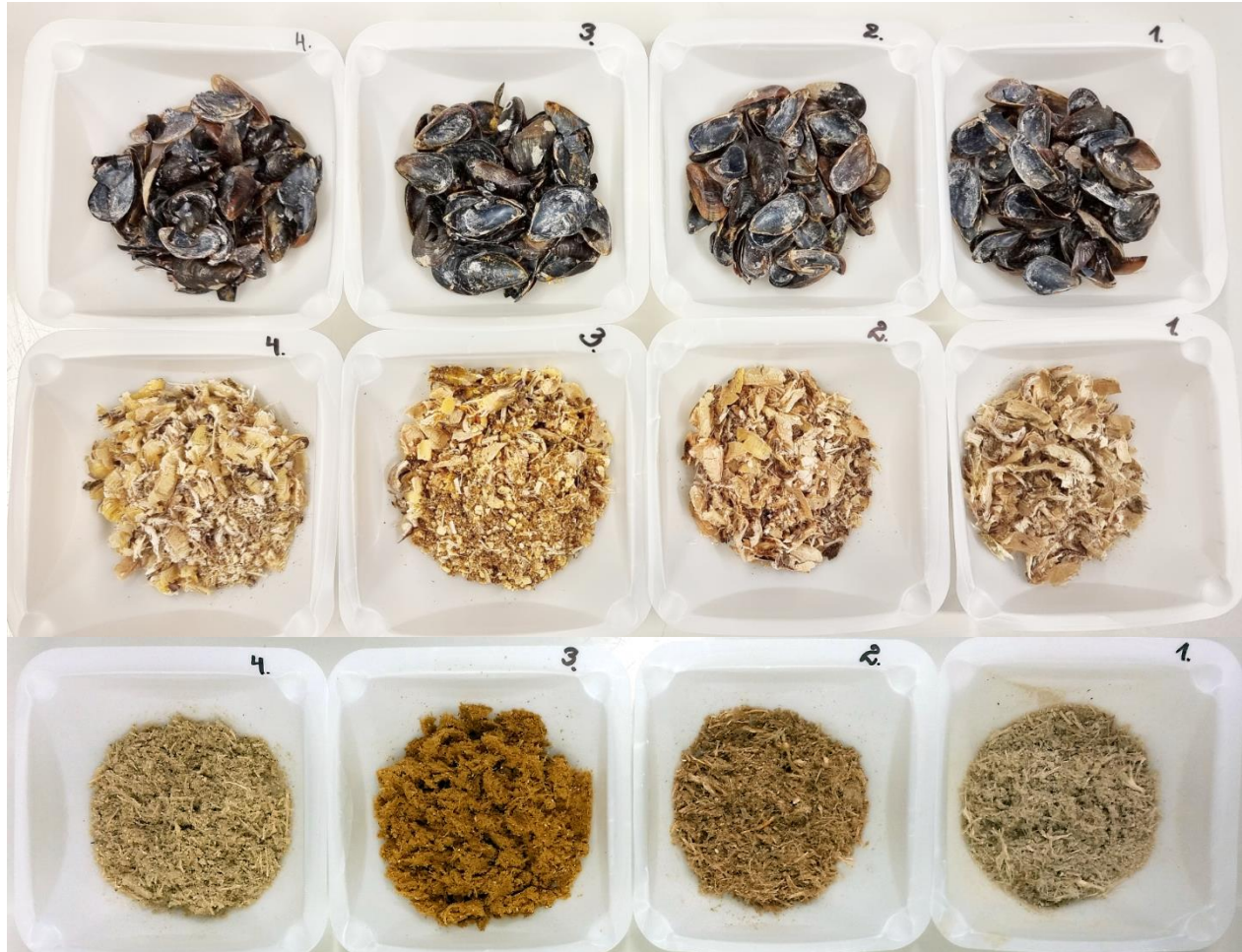


Joonis 3.9. Söödav rannakarp (a) värskel kujul, (b) keedetud, (c) värskelt kuivatatud 60 °C juures 24 h, (d) värskelt lüofiliseeritud ja (e) kodadest eraldatud lüofiliseeritud rannakarbi liha, (f) rannakarbi külge jäänud kookoskiust nõõri jäänused ning (g) tõruvähkidega kaetud värsked rannakarp.

Tabel 3.3. Liha osakaal söödava rannakarbi ja tõruvähi kuivmassides ning võetud koguste kuivmassid.

Tähis	Biomass	Biomassi kogumise aeg	Liha osakaal kuivmassis	Kogus	Kogu-kuivmass*
4	söödav rannakarp	oktoober 2022	16%	30 tk	8,0 g
3	söödav rannakarp	juuli 2022	30%	30 tk	11,8 g
2	söödav rannakarp	november 2021	16%	30 tk	8,0 g
1	söödav rannakarp	september 2020	13%	30 tk	9,0 g
T-3	tõruvähk	juuli 2022	12%	60 tk	7,5 g
T-2	tõruvähk	november 2021	10%	60 tk	4,8 g

* Kuivmassi ja liha osakaalu määramiseks võetud kogused on näha joonistel 3.2 ja 3.3 esitatud fotodel.



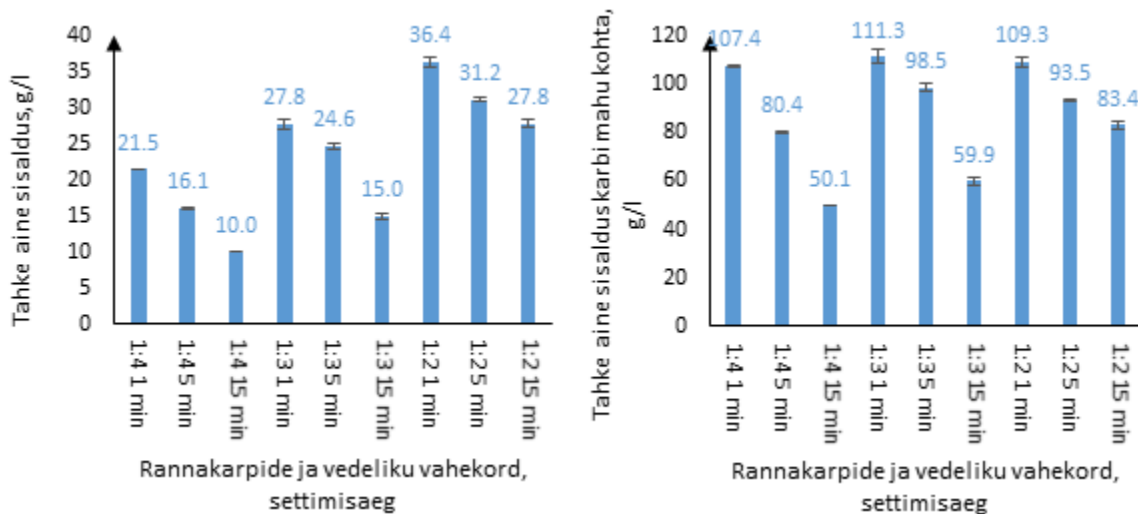
Joonis 3.10. Lüofiliseeritud rannakarbi biomassi liha ja kodade osakaalud. Söödav rannakarp kogutud 4) oktoobris 2022, 3) juulis 2022, 2) novembris 2021, 1) septembris 2020. Fotodel on iga korje puhul eraldatud 30 rannakarbi liha ja kodad. Viimasel real on liha jahvatusveskiga peenestatud kujul.



Joonis 3.11. Lüofiliseeritud tõruvähi biomassi liha (all) ja kestade osakaalud. Eraldatud söödava rannakarbi kodadelt, mis kogutud 3) juulis 2022 ja 2) novembris 2021. Fotodel on iga korje puhul eraldatud 60 tõruvähi liha ja kestad.

(2) Suspensiooni kuivjääk

Katsetulemustest (Joonis 3.12) selgus ootuspäraselt, et mida vähem vett rannakarpidele lisada, seda suurem on tahke aine sisaldus proovis ja samuti, mida lühem on settimisaeg, seda rohkem tahket ainet proov sisaldab.



Joonis 3.12. Tahke aine sisaldus rannakarpide ja vee suspensioonis (vasakul) ning rannakarpide mahu kohta erinevate vedelikukoguste ja settimisaegade kasutamisel.

Kokkuvõtvalt võib öelda, et 1 liitris värske rannakarbi koguses (vastab 600 g märgmassile) on umbes 250 g kuivainet ja sellises koguses sisalduva puhta liha kuivmass jääb hinnanguliselt 40 g juurde, ülejäänud moodustavad peamiselt mineraalained.

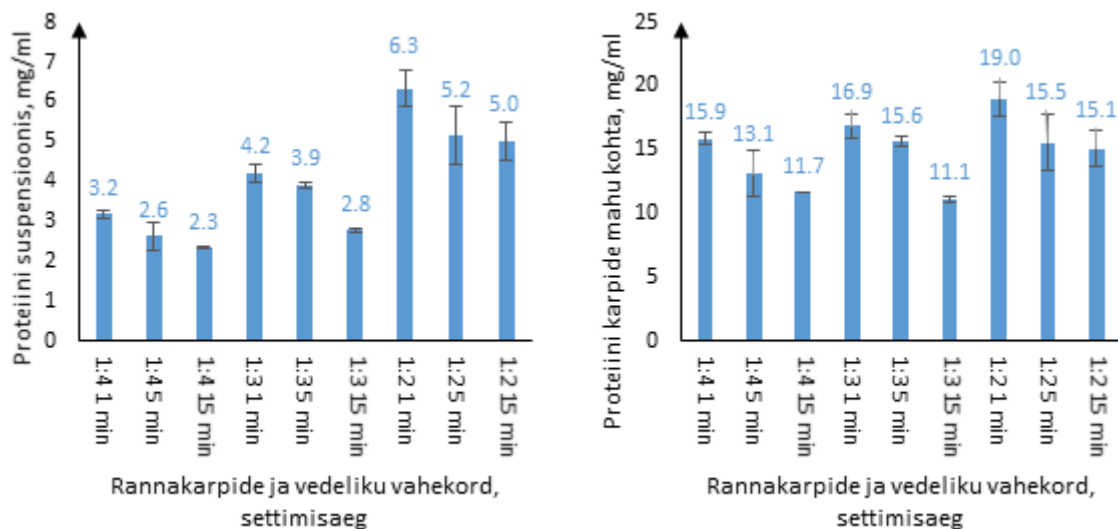
(3) Rannakarpide proteiini sisaldus

Projekti käigus leiti optimeeritud meetod rannakarbi biomassist proteiini sisalduse määramiseks. Meetod mõõdab lahustunud ja lahustumatut kujul esinevaid valke. Meetodi valideerimise käigus selgus, et selle meetodi abil ei ole siiski võimalik mõõta lihaosakeste koosseisus olevate valkude hulka, kuna meetod on tundlik üksnes vabade valkude sisalduse osas. Meetodiga ei ole võimalik hinnata ka valkude hüdroloüüsi määra.

Projekti käigus leiti optimeeritud meetod ka valkude hüdroloüüsi efektiivsuse hindamiseks. Valkude hüdroloüüsi efektiivsuse hindamiseks kasutati OPA (o-ftaaldialdehüüdi) ja TNBS (trinitrobenseensulfoonhappe) meetodit. Meetodid mõõdavad lahuses esinevate vabade aminohapete hulka ja peptiide, mistõttu võimaldab hinnata valkude hüdroloüüsi efektiivsust. TNBS meetod ei sobi kasutamiseks vabasid amiine sisaldavate puhvritega (nt. TRIS-glütsiin).

Katsetulemustest (Joonis 3.13) selgus ootuspäraselt, et mida suurem oli rannakarpide kontsentratsioon lahuses, seda rohkem proteiini suspensioon sisaldas. Lahus, mis sisaldas 1 osa rannakarpe ja 2 osa vett sisaldas ka ligikaudu 2 korda rohkem proteiini, võrreldes lahusega, mis sisaldas 1 osa rannakarpe ja 4 osa vett. Mida kauem proovil settida lasti, seda vähem sisaldas lahus proteiini, st osa proteiinist settis koos kodadega silindri põhja. 1 ja 15 minutiline selitusaeg annab hinnanguliselt 1,5 kordse erinevuse proteiini sisalduses.

Vabade valkude osakaal toorliha homogenisaadis on madal, st enamus valkudest esineb lihaosakeste koosseisus. Vabade valkude osakaalu suurendamiseks on vajalik lihaosakeste keemiline/ensümaatiline lõhustamine.

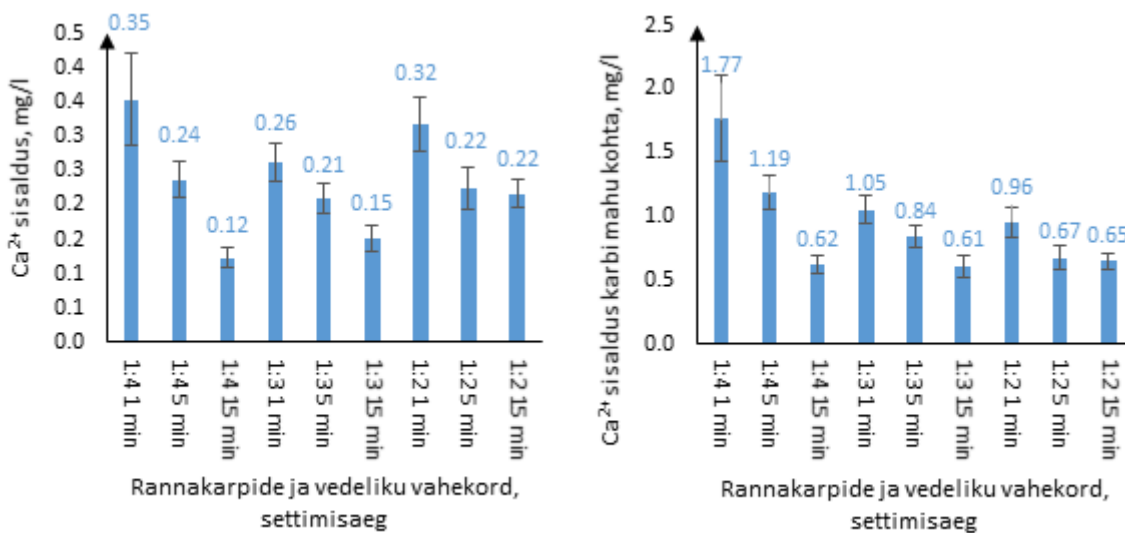


Joonis 3.13. Proteiini sisaldus rannakarpide ja vee suspensioonis (vasakul) ning rannakarpide mahu kohta erinevate vedelikukoguste ja settimisaegade kasutamisel.

(4) Ca²⁺-ioonide sisaldus

Projekti käigus leiti optimeeritud meetod rannakarbi massist kaltsiumi sisalduse määramiseks. Meetod mõõdab lahuses esinevate Ca²⁺-ioonide kontsentratsiooni, kuid ei võimalda täpselt hinnata karbikodade tükides esinevat seotud kaltsiumi. Karbikodade koosseisus oleva kaltsiumi hindamiseks on kõige otstarbekam kasutada kaltsiumselektiivset elektroodi, mis võimaldab muuhulgas kaltsiumi vabanemist reaalajas jälgida.

Katsetulemustest (Joonis 3.14) selgus, et kaltsiumi kontsentratsioon oluliselt rannakarpide ja vee vahekorrast ei sõltunud. Küll aga sisaldasid pikemalt settinud proovid vähem kaltsiumi. 15-minutiline selitusaeg võimaldab saavutada oluliselt madalamaid kaltsiumi sisaldusi võrreldes 1 ja 5 minuti pikkuste selitusaegadega. Seega on kaltsiumisisalduse osas eelistatum 15 minuti pikkune selitusaeg.



Joonis 3.14. Lahustunud kaltsiumi sisaldus rannakarpide ja vee suspensioonis (vasakul) ning rannakarpide mahu kohta erinevate vedelikukoguste ja settimisaegade kasutamisel.

(5) Rannakarpide biomassi mehhaanilise töötlemise teel saadud fraktsioonide kuivainesisaldused

Toore ja keedetud rannakarbi homogeniseeritud ekstraktide settimise karakteristikud on erinevad – toore rannakarbi puhul settivad suuremad lihatükid eelkõige anuma põhja, keedetud rannakarbi puhul tõusevad suuremad lihatükid hoopis pinnale. Seda põhjustab õhumullikeste kinnijäämine kuumtöödeldud lihasse, mis omakorda muudab lihatükikesi hõlmavate agregaatide tiheduse vee omast väiksemaks. Sellist vastupidist kihistumist ilmestavad ka kogutud fraktsioonide kuivmasside sisaldused (Tabel 3.4): toore rannakarbi fraktsiooni nr **F4** ja keedetud rannakarbi fraktsiooni nr **F1** on peaaegu samasuguse, kõrgema kuivainesisaldusega kui ülejäänud fraktsioonid va. fraktsioonid **F6** (enamjaolt purustatud karbikodad). Fraktsiooni **F5** (toore rannakarbi vahune fraktsioon) kõrge kuivainesisaldus on tõenäoliselt põhjustatud rannakarbi koja peenikestest tükikestest, mis sattusid sinna fraktsiooni kogumisel settinud rannakarbi pinnalt.

Üldiselt on vahu tekkimine biomasside töötlemisel ebasoovitav nähtus, kuna suurendab tootmiskulusid produktiivse ruumala vähenemise ning anumate tühjendamise ja puhastuse keerukuse kaudu. Rannakarpide homogeniseerimisel tekkivat vahtu on võimalik vähendada karpide kuumtöötlemisega enne homogeniseerimisprotsessi (Joonis 3.15). Rannakarpide biomassi väärindamise seisukohast võivad aga

püsiivat tihedat vahtu tekitavad valgud olla huvipakkuvad ja neid võib olla otstarbekas muust massist eraldi koguda.

Tabel 3.4. Blenderiga homogeniseeritud rannakarbi ja vee segu fraktsioonid ja nende kuivainesisaldused.

Fraktsiooni number	Kuivainesisaldus fraktsioonis (%)	
	Ekstrakt toorestest karpidest	Ekstrakt keedetud karpidest
F1	1,7	4,4
F2	1,5	1,2
F3	1,0	1,2
F4	3,5	1,3
F5*	4,2	-
F6**	70,6	68,2

* Vahufraktsioon

* Karpide purustatud kojad



Joonis 3.15. Toore ja keedetud rannakarbi homogeniseeritud ekstrakt pärast 1 min settimist.

(6) Ensüümtötlusel ja ultrafiltratsioonil saadud saagised

Võttes aluseks eelnevate katsete mehhaanilise ja ensümaatilise töötlemise andmed ja tulemused, on rannakarbibiomassi fraktsioneerimine paremini korratav ja ülekantav suurtematele mahtudele, kui settimise asemel kasutada peale purustamist homogenisaadi tsentrifuugimist. See on eriti soovitatav juhtudel, kui edasiseks fraktsioneerimiseks ja/või puhastamiseks kasutatakse ka ultrafiltratsiooni.

Valkude eraldamisel fraktsioonist, mis sisaldab vees lahustumatuid osakesi (liha- ja kojatükke), väikemaid peptiide ja/või aminohappeid, on soovitatav teostada eelnevalt kuumtöötlemata biomassile ensüümtötlusel aluselise keskkonda ja kõrget temperatuuri vajava proteaasiga. Denatureeritud valgu (nt-ks kuumtöödeldud liha) ensümaatilise hüdrolüüsi jaoks on vaja rohkem ensüümi kui denatureerimata valgu jaoks. Ensümolüüsi lõpetamiseks vajalik kõrge temperatuur aitab hiljem ennetada ka bakteriaalset reostumist. Happelist keskkonda vajavad ensüümid rannakarbi biomassi lihavalgu töötlemiseks ei sobi, kuna vajavad kõrge karbonaatide sisalduse tõttu kange happe lisamist ja pH sättimist ka ensüümtöötlemise ajal.



Aluselises keskkonnas toimivate ensüümide puhul ei ole üldjuhul vajalik lisada kemikaale ensüümtöötamise ajal, kuna karbonaatide puhverdusvõime tõttu püsib pH-väärtus (7,5) lahuses suhteliselt stabiilsena.

Alkalaasiga teostatud ensüümtöötusest nähtus, et ensümaatilise hüdrolyüsi abil on võimalik efektiivselt muuta lahustuvaks suurem osa lihatükikestes olnud valku ja/või selle komponente. OPA-meetodil (hindab lahuses esinevate vabade aminohapete hulka ja peptiide) teostatud mõõtmine näitas ensüümtööteldud liha+kodade homogenisaadi 13 korda suuremat neelduvust võrreldes ensüümtöötlemata homogenisaadiga (fraktsioon **F1**, Joonis 3.5) ning tööteldud homogenisaat oli silmnähtavalt vedel. Homogenisaadi veeldumise tõttu sadenesid ka kogatükid kergemini lahusest välja ning tekkinud ensüümtööteldud homogenisaati oli lihtsam tsentrifugida. Sademesse jäi peamiselt mineraalainete (tuhasus 81%) ja karbonaatiderikas (tuhasuste vahe 550°C ja 950°C juures oli 33%) osa. Ensüümtöötuse efektiivsust kinnitas ka ultrafiltratsiooni teel fraktsiooni **S3** (ensüümtööteldud homogenisaadi vees lahustuv osa) puhastamine, mille käigus läbis enamuse peptiididest membraani MWCO 10 000 Da.

(7) Rannakarbi saadud lahustuv valgufraktsioon

Suvel kogutud rannakarbi biomass sisaldas võrreldes sügisel kogutuga märkimisväärselt suuremas koguses kollase värvusega pigmentaineid, sh karotenoide. Seda tüüpi ühendeid on võimalik valgufraktsioonist eraldada etanooltöötuse teel, viies need ained lahusesse. Lisaks võimaldab etanooli lisand välja sadestada rannakarbi ekstraktides lahustunud valgulised ühendid. Lahustuva valgulise osa fraktsioneerimisel saadud preparaate saagised jäid rannakarbi märgmassi suhtes 3% juurde ning olulisi erinevusi saagistes keedetud ja keetmata biomassi kasutamisel ei täheldatud.

(8) Rannakarbi õli sisaldus ja selle koostis

Õli sisaldus rannakarbi lihas varieerub suhteliselt suurtes piirides, uuritud preparaate puhul jäi see vahemikku 6,8–22,8% liha kuivmassist (Tabel 3.5). Suvel kogutud biomassis oli õli sisaldus märkimisväärselt kõrgem kui sügisel kogutud proovide puhul. Seda peegeldas ka liha kollakam värvus. Rannakarbi valgufraktsiooni rafineeritud preparaadid R-1 ja R-2 sisaldasid õli 5,1–11,4%, madalam oli sisaldus keedetud biomassist saadud proovis.

Õlis esines enim palmitiinhapet (26,9–30,7%), dokosaheksaeenhapet (DHA 8,4–24,9%) ja eikosapentaeenhapet (EPA 7,4–18,7%). Suhteliselt rohkesti esines ka palmitoleenhapet, mille sisaldus proovides kõikus suurtes piirides (3,4–16,4%).

Kõrge summaarne polüküllastumata omega-3-rasvhapete DHA ja EPA sisaldus (16,1–43,6,1%) annab rannakarbi õlile tervist toetavad kasulikud omadused ning teeb seda sisaldavad preparaadid atraktiivseks inimtoidu komponentidena. Kuna söödava rannakarbi kodade pinnal esineva tõruvähi liha on samuti rikkalik polüküllastumata omega-3-rasvhapete allikas (DHA + EPA sisaldus 35,6%), siis ei vähenda tõruvähkide esinemine kogubiomassist pärineva õli kvaliteeti ja võib selle kvaliteedinäitajaid isegi tõsta. Võrreldes rannakarbi lihaga esineb tõruvähi lihas rohkem elaidiinhapet ning vähem eikoseenhapet ja arahhidoonhapet. Rannakarbi valgufraktsiooni rafineeritud proovides jäi DHA ja EPA summaarne sisaldus võrreldes lihapreparaatidega väiksemaks ning oli eriti madal keedetud rannakarbi valmistatud valgufraktsiooni korral.

Polüküllastumata omega-3-rasvhapete sisaldus rannakarbi lihas sõltus olulisel määral rannakarbi kogumise ajast. Täiskasvanud karpide (ca. 1,5–2 cm) rasvhapete sisaldus oli suurim 2022. a. oktoobris ja väiksem 2021. a. novembris. Suvel kogutud biomassis sisalduva õli rasvhapete profiil erines mõnevõrra sügisel kogutud proovide omast, selles sisaldus rohkesti palmitoleenhapet, linoolhapet ja α -linoleenhapet ning vähem

arahhidoonhapet. Võttes arvesse suvel kogutud rannakarbi liha suure õlisisalduse ja selle DHA ning EPA kõrged sisaldused, võib suvel kogutud rannakarpi pidada inимtoidus kasutamise seisukohalt üldiselt väärtuslikumaks kui sügisel korjatud biomassi.

Tabel 3.5. Söödava rannakarbi õli kogusisaldus ja selles sisalduvate rasvhapete profiil.

Rasvhappe nimetus	Rasvhappe sisaldus (%) rasvhapete koguhulgast*						
	L-1	L-2	L-3	L-4	R-1	R-2	TL-3
Müristiinhape	1,8	3,8	2,4	1,0	4,4	6,1	4,3
Pentadetsüülhape	1,0	1,0	0,2	0,4	0,2	0,3	0,4
Palmitiinhape	26,9	30,7	12,3	11,2	15,4	18,6	13,2
Palmitoleenhape	3,4	12,7	16,4	3,0	21,6	23,7	18,7
Steariinhape	3,7	2,0	1,2	1,5	0,8	1,1	2,5
Elaidiinhape	1,8	2,6	1,8	1,3	1,7	2,5	4,8
Oleiinhape, Linoleiinhape, α-linoleenhape	5,1	8,8	14,6	7,8	15,3	16,7	11,6
Linoalhape	2,0	4,3	11,7	5,1	10,3	8,2	5,7
Eikoseenhape	5,0	3,4	2,0	2,3	1,2	1,2	0,9
Eikosadieenhape	1,3	1,1	1,3	1,0	0,9	0,6	0,6
Arahhidoonhape	2,4	1,3	0,6	4,1	11,0	7,9	0,8
Eikosapentaenenhape (EPA)	7,4	7,7	16,2	18,7	9,2	6,6	20,4
Dokosaheksaenenhape (DHA)	15,7	8,4	11,3	24,9	5,2	3,8	15,2
	Õli sisaldus preparaadi kuivmassis, %						
	L-1	L-2	L-3	L-4	R-1	R-2	TL-3
	6,8	10,9	22,8	7,2	11,4	5,1	14,2

* Preparaatide tähised:

L-1 – Rannakarbi liha (september 2020 korje);

L-2 – Rannakarbi liha (november 2021 korje);

L-3 – Rannakarbi liha (juuli 2022 korje);

L-4 – Rannakarbi liha (oktoober 2022 korje);

R-1 – Rannakarbi valgufraktsiooni rafineeritud preparaat keetmata biomassist (juuli 2022 korje);

R-2 – Rannakarbi valgufraktsiooni rafineeritud preparaat keedetud biomassist (juuli 2022 korje);

TL-3 – tõruvähkide liha (juuli 2022 korje).

(9) Aminohapete sisaldus rannakarbis

Valkude koosseisus esinevate aminohapete sisaldus rannakarbi liha kuivmassis jäi vahemikku 45,8–50,0% (Tabel 3.6) ning sisaldus ei sõltunud märkimisväärselt karpide korjamise ajast. Liha ensüümtötlus alkalaasiga viis praktiliselt kõigi valguliste komponentide lahustumiseni, saadud lahustuva fraktsiooni kuivaines sisaldus aminohappeid 45,5%, lahustumatus fraktsioonis aga vaid 0,11%. Külmutatud rannakarbi sulatamisel eralduva nõrgveega kandub osa valgulisi komponente biomassist välja, nõrgvee kuivmassisisalduses oli aminohappelisi komponente 30,2%. Saadud väärtus on mõnevõrra väiksem lihas mõõdetust, sest nõrgvee koosseisus leidub rohkem meresoolast pärinevat mineraalset komponenti. Purustatud rannakarbi biomassi lahustuva komponendi kuivmassis sisaldub aminohappelist osa 40,1%, mis on mõnevõrra rohkem kui nõrgvees, kuid võrreldes puhta lihaga, vähem.



Aminohapetest esineb rannakarbi lihas ja valgupreparaatides enim glutamiinhapet ja lüsiini. Rohkesti leidub ka leutsiini, asparagiinhapet, glütsiini jaalaniini. Valkude koosseisus esinevate aminohapete profiil on suhteliselt püsiv ja ei sõltu olulisel määral rannakarbi kogumise ajast ning prepareerimise tehnikast. Mõnevõrra suuremaid erisusi täheldati nõrgvee aminohapete profiilis, milles esines teiste preparaatidega võrreldes rohkem arginiini ja β -alaniini.

Rannakarp on hea asendamatute aminohapete allikas. Asendamatute aminohapete kogusisaldus rannakarbi liha kuivmassis jäi vahemikku 20,1–22,8% ning nende osakaal aminohapete kogusisaldusest jäi 43,8–49,6% juurde. Mõnevõrra väiksem oli asendamatute aminohapete osakaal nõrgvees, kus see näitaja jäi 41,3% juurde.

Rannakarbi lihas ja selle preparaatides esineb vabasad aminohappeid vähesel määral, kuivmassist vaid 0,5–1,0%. Peamise osa vabadest aminohapetest moodustavad glutamiinhape, arginiin jaalaniin (Tabel 3.7). Vabade aminohapete hulgas esines asendamatuid aminohappeid 25,4–34,6% osakaalus, mida on mõnevõrra vähem kui täheldati valkude koosseisus olevate aminohapete puhul. Ensüümtöödeldud proovi lahustuva fraktsiooni vabade aminohapete analüüs näitas, et alkalaasi toimel lagundatakse praktiliselt kõik valgud vabade aminohapeteni. See annab kinnitust ensüümtöötuse kõrgest efektiivsusest ja potentsiaalset söödava rannakarbi biomassi komponentide lahustuvaks muutmises. Vähesest orgaanika sisaldusest tingituna esines ensüümtöödeldud proovi lahustumatu jäägi kuivmassis aminohappeid vähesel määral, vaid 0,03% kuivmassist. Nõrgvee ja purustatud rannakarpide lahustuva fraktsiooni kuivmasside vabade aminohapete profiilid olid sarnased rannakarbi liha omadega – enim leitud glutamiinhapet jaalaniini. Mõnevõrra erines siiski nõrgvee kuivmassi profiil, selles preparaadis sisaldus suhteliselt rohkem tauriini ja histidiini.

Tabel 3.6. Seotud ja vabade aminohapete sisaldus söödava rannakarbi lihas ja sellest eraldatud fraktsioonides.

Tähis	Aminohape	Aminohappe sisaldus (%) preparaadi kuivmassis*						
		L-1	L-2	L-3	E-1	E-2	L-6	L-7
Ala	L-alaniin	2,90	3,41	3,10	0,01	3,44	1,87	2,48
Gly	Glütsiin	3,46	4,76	3,15	0,01	3,08	1,58	2,18
β-Ala	β-alaniin	0,32	0,24	0,34	0,01	0,30	0,81	0,64
Val	L-valiin	2,39	2,75	2,61	0,01	2,98	1,41	2,13
Leu	L-leutsiin	3,85	4,53	4,05	0,02	3,95	1,86	2,91
Ile	L-isoleutsiin	2,50	2,91	2,66	0,01	2,76	1,32	2,03
Pro	L-proliin	1,87	2,62	1,78	0,00	2,21	1,33	1,93
Tau	Tauriin	0,04	0,03	0,06	0,01	0,07	0,14	0,05
Met	L-metioniin	1,06	1,60	1,05	0,00	1,11	0,58	0,83
Ser	L-seriin	1,30	1,77	2,01	0,00	1,96	0,83	1,38
Thr	L-treoniin	0,85	1,35	1,88	0,00	2,38	1,15	1,97
Phe	L-fenüülalaniin	1,93	2,28	2,19	0,01	2,08	1,21	1,92
Asp	L-asparagiinhape	3,49	2,95	3,37	0,00	2,96	2,45	3,12
Hyp	Hüdroksü-L-proliin	0,09	0,13	0,05	0,00	0,07	0,01	0,02
Cys	L-tsüsteiin	0,28	0,32	0,06	0,01	0,20	0,23	0,17
Glu	L-glutamiinhape	8,12	7,75	7,39	0,00	5,91	4,46	5,94
Arg	L-arginiin	2,43	1,48	1,91	0,00	1,04	3,38	2,41
Asn	L-asparagiin	0,01	0,03	0,01	0,01	0,10	0,01	0,15
Lys	L-lüsiin	6,55	6,12	7,04	0,00	6,06	3,91	5,46
Gln	L-glutamiin	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
His	L-histidiin	0,92	1,21	1,16	0,00	1,23	1,05	1,23
Tyr	L-türosiin	1,47	1,72	1,65	0,00	1,61	0,63	1,17
Trp	L-trüptofaan	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
Kokku:		45,82	49,96	47,54	0,11	45,52	30,24	40,12

* Preparaatide tähised:

L-1 – Rannakarbi liha (september 2020 korje);

L-2 – Rannakarbi liha (november 2021 korje);

L-3 – Rannakarbi liha (juuli 2022 korje);

E-1 – Alkalaasiga töödeldud lihafraktsiooni (L-3) lahustumatu komponent;

E-2 – Alkalaasiga töödeldud lihafraktsiooni (L-3) lahustuv komponent;

L-6 – Rannakarbi külmutatud biomassi (nov 2021 korje) sulamisel eralduva nõrgvee fraktsioon;

L-7 – Purustatud rannakarbi biomassi (nov 2021 korje) vesilahustuv fraktsioon.

Tabel 3.7. Vabade aminohapete sisaldus söödava rannakarbi lihas ja sellest eraldatud fraktsioonides.

Tähis	Aminohape	Aminohappe sisaldus (%) preparaadi kuivmassis*						
		L-1	L-2	L-3	E-1	E-2	L-6	L-7
Ala	L-alaniin	0,056	0,002	0,118	0,000	2,58	0,073	0,049
Gly	Glütsiin	0,026	0,001	0,044	0,000	0,62	0,033	0,024
β-Ala	β-alaniin	0,036	0,010	0,078	0,003	0,23	0,023	0,035
Val	L-valiin	0,011	0,001	0,025	0,000	2,00	0,013	0,013
Leu	L-leutsiin	0,021	0,001	0,037	0,001	3,52	0,020	0,019
Ile	L-isoleutsiin	0,011	0,001	0,021	0,000	1,93	0,013	0,011
Pro	L-proliin	0,007	0,000	0,019	0,000	0,37	0,013	0,011
Tau	Tauriin	0,009	0,002	0,012	0,000	0,10	0,028	0,012
Met	L-metioniin	0,015	0,001	0,018	0,000	1,53	0,015	0,012
Ser	L-seriin	0,012	0,000	0,019	0,000	2,00	0,015	0,011
Thr	L-treoniin	0,013	0,000	0,027	0,000	2,38	0,016	0,013
Phe	L-fenüülalaniin	0,013	0,001	0,021	0,000	2,65	0,016	0,013
Asp	L-asparagiinhape	0,012	0,000	0,017	0,000	0,55	0,010	0,014
Hyp	Hüdroksü-L-proliin	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000
Cys	L-tsüsteiin	0,005	0,002	0,002	0,001	0,12	0,002	0,002
Glu	L-glutamiiinhape	0,063	0,000	0,092	0,000	4,23	0,071	0,058
Arg	L-arginiin	0,071	0,000	0,204	0,000	1,67	0,052	0,036
Asn	L-asparagiin	0,003	0,001	0,019	0,001	2,94	0,007	0,001
Lys	L-lüsiin	0,023	0,000	0,071	0,000	4,83	0,013	0,018
Gln	L-glutamiin	0,011	0,000	0,020	0,000	0,59	0,014	0,008
His	L-histidiin	0,027	0,000	0,029	0,000	1,68	0,032	0,018
Tyr	L-türosiin	0,020	0,000	0,022	0,000	3,34	0,009	0,010
Trp	L-trüptofaan	0,041	0,001	0,041	0,000	4,00	0,035	0,025
Kokku:		0,51	0,03	0,96	0,01	43,88	0,53	0,41

* Preparaatide tähised:

L-1 – Rannakarbi liha (september 2020 korje);

L-2 – Rannakarbi liha (november 2021 korje);

L-3 – Rannakarbi liha (juuli 2022 korje);

E-1 – Alkalaasiga töödeldud lihafraktsiooni (L-3) lahustumatu komponent;

E-2 – Alkalaasiga töödeldud lihafraktsiooni (L-3) lahustuv komponent;

L-6 – Rannakarbi külmutatud biomassi (november 2021 korje) sulamisel eralduva nõrgvee fraktsioon;

L-7 – Purustatud rannakarbi biomassi (november 2021 korje) vesilahustuv fraktsioon.

(10) Rannakarpide väärindamine söödaks ja toiduks

Selleks, et saavutada võrdlemisi kerge vaevaga Eesti meres kasvatatud karpidest suurt lisandväärtust, uurisime, kui suurel määral on võimalik lihtsa tootmisprotsessi kaudu väärindada saagis olevaid karpe inimtoiduks. See osa karbilihast on kõige väärtuslikum ning juhul, kui tootmisprotsess on kulutõhus, suudame karpe väärindada majanduslikult tasuval viisil. On teada, et karbiliha on rikas valkude, omega-3 rasvhapete, magneesiumi, kaltsiumi, seleeni, raua, vitamiin B12 poolest. Nad on suure magneesiumi- ja kaaliumisisaldusega, tugevdades nii südant kui ka närvisüsteemi. Seega on väga oluline soodustada sellise tooraine intensiivsemat kasutust meie toitlustuskohtades ning toiduainetööstuses.

Varasemalt on karpide liha eraldamiseks kasutatud suure rõhu all tekitatud veeauru jugasid, kuid meie esialgsed katsetused selles vallas näitasid, et Läänemere väiksemõõtmeliste karpide puhul ei olnud tegemist kulutõhusa meetodiga, kuna protsessi tarbeks kulum energia hulk on väga suur ning lõplik saagis (proteiinimass) on väga väike. Siit tulenevalt otsustasime korbimassi esmalt purustada ning seejärel mehhaaniliselt korbiliha kodadest eraldada. Kuna korbiliha ja kodade tihedus on väga erinev, siis selline protsess osutus võrdlemisi efektiivseks. Seejärel kasutasime olemasolevat Est-Agar AS infrastruktuuri (projekti jaoks kohandatud piloot-tootmisliini) ning eelnevalt laboratooriumis kogutud oskusteavet, et sellise tootmisprotsessi efektiivsust suurendada (Joonised 3.16–3.17).



Joonis 3.16. Est-Agar AS tootmishoones kasutusel olev töndluslik haklihamasin, millega saab karpe purustada (vasakul) ning granulaator, millega saab purustatud korbimassi või proteiinipulbrit siduda sideaine abil vajaliku suurusega osisteks (paremal), juhul kui soovime korbimassist toota näiteks kalasööta.



Joonis 3.17. Est-Agar AS laboris kasutusel olev kuivatusahi, mille abil uuriti kuivatusperioodi pikkuse mõju proteiinipulbri niiskuse sisaldusele (vasakul) ning saagise tekstuuri analüsaator, millega hinnati ekstrahheeritud materjali erinevaid omadusi (paremal).

Selleks, et vääridada karbimassi inimtoiduks, viisime erinevatel tingimustel läbi 10 korduskatset, et optimeerida erinevate tootmistehnoloogiliste etappide energiakulu ning suurendada proteiinipulbri saagist. Allpool kirjeldame merekarpide vääridamise olulisemaid tootmistehnoloogilisi etappe. Karpide vääridamise esimesed korduskatsed on publitseeritud juba ka teadusartiklina (Adler et al., 2022).

1. Külmutatud karbid pestakse voolava vee all.
2. Seejärel karbid purustatakse hakklihamasinas, kasutades selleks jämejahvatuseks mõeldud ketast.
3. Lisatakse 2,5 liitrit vett iga 1 kg karbimassi kohta ja mass dekanteeritakse selliselt, et saagisesse satuks maksimaalne lihahulk (hindamine visuaalselt). Dekanteerimisest allesjäänud vähemväärtuslikku fraktsiooni (kodade külge kinnitunud üksikuid lihatükikesi) on võimalik samuti vääridada (vt allpool).
4. Valmistatakse 4% sidrunhappe lahus ja lisatakse 2,5 liitrit 4% sidrunhappe lahust iga 1 kg dekanteeritud karbiliha kohta.
5. Saadud segu valatakse konteinerisse, kus lastakse sidrunhappel ja karbilihal aeglasel kiirusel seguneda 1 tunni jooksul.
6. Seejärel keedetakse liha ja veemassi 15 minutit.
7. Saadud keedus jahutakse ning valatakse tsentrifuugianumatesse.
8. Seejärel toimub tsentrifuugimine 10 minuti jooksul (4500 pööret minutis).
9. Vesi valatakse pealt ning tsentrifuugitud lihamass on valmis kasutamiseks.
10. Vajadusel võib lihamassi edasi kuivatada. Üheks optimaalseks lahenduseks oleks liha kuivatamine konvektsioonahjus 100 kraadi juures 60 minutit. Suuremate lihakoguste juures on mõistlik kasutada näiteks



tunneli tüüpi tööstusliku külmutuskuivatit. Ideaalis võiks vee sisaldus sellises tootes olla 10% ning vee aktiivsus alla 0,6.

Sellise protsessi käigus valminud proteiinipulber tuli heledavärviline, mistõttu saab seda toodet väga edukalt kasutada erinevate segude valmistamiseks. Samuti õnnestus protsessi käigus vabaneda liivasusest ning tootes puudus täelikult mudamaitse.

Tootmisprotsessi käigus oli võimalik saada 1 tonnist karbimassist kokku 129 kg proteiinimassi. Tegemist on väga hea tulemusega, kuna laboritingimustes mõõdeti samade karpide liha osakaaluks kogu biomassis 13–16%.

Tootmisliinil saadud karpide homogeniseeritud lihamassi saab potentsiaalselt kasutada väga erinevate toidutoodete arendamiseks sh. pastaroad, puljongipulbrid, (harrastus)sportlastele mõeldud tervislike valgubatoonide valmistamisel.

Lihamassi dekanteerimisel alles jäänud vähemväärtuslikku fraktsiooni (kodade külge kinnitunud üksikuid lihatükikesi) on võimalik praktiliselt töötlemata kujul kasutada linnu- ja/või loomatoiduks. Kalasöötade arendamisel on vajalik sööta lisada atraktante, mis teeksid sellise sööda vesiviljeldavatele liikidele maitavamaks. Alternatiivis võib aga karpidest toota õlisid, mille näol on tegemist väga hinnalise kalasööda komponendiga (karbimassis sisalduvate erinevate õlide koosseisu ja sisaldust on kirjeldatud eelpool). Tuvikene ja Robal (2022) analüüsisid detailselt rannakarbi väärindamise potentsiaali just biokeemilisest perspektiivist ning nende uuringutulemused ühtivad väga suures ulatuses käesoleva projekti tulemustega.

(11) Hinnang rannakarpide väärindamisprotsesside tasuvusele ja skaleeritavus

Rannakarbi biomassi üheks väärtuslikumaks toidutööstuses kasutatavaks komponendiks võib pidada selles esinevat õli. Kasulike oomega-3 rasvhapete (EPA ja DHA) kogusisalduse (16–44%) poolest konkureerib rannakarbi õli lõheõli (EPA + DHA ~20%) ja tursaõliga (EPA + DHA ~30%). Kuna sügisesed korjed sisaldavad rohkem DHA-d ning suvel püütu enam EPA-d, on võimalik sõltuvalt korje sesoonist saada erineva EPA ja DHA vahekorraga õli. Samuti sõltub EPA ja DHA vahekord teatud määral õli rafineerimise tehnoloogiast.

Õli eraldamiseks rannakarbi biomassist on võimalik kasutada füüsikalisi, ensümaatilisi ja keemilisi meetodeid. **Füüsikalise meetodi** puhul biomass homogeniseeritakse, kuumtöödeldakse ja pressitakse (või tsentrifuugitakse) ning eralduv õli filtritakse. Kuna pressimist raskendab karbikodade esinemine preparaadis, siis on otstarbekas koad eelnevalt eemaldada. Selleks võib kasutada biomassi homogeniseerimist nugaveskis, karbikodade setitamist ning lihafraktsiooni dekanteerimist. Kuumtöötlemiseks (tavaliselt otsene või kaudne kuumaauru töötlus) sobilik temperatuurivahemik on 95–100 °C (15–20 min) ning selle eesmärgiks on valgud denatureerimise teel lahustumatumaks muuta ning vabastada kudedes olev õli ja vesi. Õli pressimisel kõrvalsaadusena tekkiv pressjääk sobib peale kuivatamist (nt tunnelkuivatis) kasutamiseks valgupreparaatide (nt spordijookide) koosseisus.

Võttes aluseks, et rannakarbi mägmassis sisaldub keskmiselt 36% kuivainet, millest keskmiselt 18% on liha ning selles sisaldub omakorda 6,8–22,8% õli, saab ühest tonnist värskest rannakarbist teoreetiliselt 4,4–14,8 kg õli ja 50–60,4 kg valgurikast kuivpreparaati. 0,5 hektari suuruse karbifarmi puhul, mille saagikuseks jääb hinnanguliselt 80 tonni biomassi märgkaalus, on saadava õli kogus 0,35–1,18 tonni ning valgupreparaadi kogus 4–4,8 tonni. Tegelikud saagikused sõltuvad aga suuresti töötamiseks valitud tehnoloogilisest lahendusest.



Keemilisel meetodi puhul kasutatakse biomassi töötlust orgaanilise solvendiga, mille tulemusel õlid lahustatakse ning seejärel eraldatakse biomassist koos solvendiga. Tööstuslikes mahtudes on solventidest kasutatav enamasti vaid heksaan. Õli saagise suurendamiseks on otstarbekas biomass enne töötlust homogeniseerida. Solventtöötluste kõrvalsaaduseks on valgurikas biomass, mida on võimalik kasutada proteiinipreparaatide valmistamiseks. Siiski on õli eraldamine keemilisel meetodil kulukas ning keskkonnanõuetlik protsess, mistõttu rannakarbi biomassi puhul ei ole seda otstarbekas rakendada. Solventekstraktsiooni alternatiivina saab õlide eraldamiseks kasutada keskkonnasõbralikku ülekritilise süsihappegaasi ekstraktsiooni spetsiaalses ekstraktoris. Ekstraktsioonis sobilik temperatuur jääb vahemikku 40–50 °C ja rõhk 12–18 MPa juurde. Kuna ülekritilise ekstraktsiooni meetod on suhteliselt energiamahukas, tasub selle rakendamine ära juhul, kui saadaval õlipreparaadil esinevad konkureerivate õliproduktidega võrreldes olulised kasulikud omadused – nt suur bioloogiline aktiivsus, põletikuvastased omadused jms.

Ensümaatilise meetodi puhul biomass esmalt homogeniseeritakse ning seejärel töödeldakse proteolüütiliste ensüümidega valitud ensüümide toimeks optimaalse temperatuuri ja pH tingimustes. Kuna karbikodadest pärineva kaltsiumkarbonaat vees vähesel määral lahustub ja muudab lahuse nõrgalt aluseliseks, on rannakarbi biomassi töötlusteks otstarbekas kasutada leeliselises keskkonnas toimivaid ensüüme, nt alkalaasi. Selle ensüümi efektiivseks toimimiseks on otstarbekas hüdroolüüs läbi viia 60 °C juures. Hüdroolüüsi käigus lagunevad biomassis esinevad valgud vees hästi lahustuvateks aminohapeteks ja peptiidideks, õlid vabanevad kudedest ning moodustavad emulsiooni. Seejärel saab õli vesilahusest tsentrifuugimise teel eemaldada, valgühüdroolüsaadi aga proteiinipulbri valmistamiseks kuivatada (nt spreikuivatuse põhimõttel). Rannakarbi valgühüdroolüsaadi kuivpreparaadid on kergesti omastatavad ning nende baasil saab valmistada hästi imenduvaid spordijooke ja muid eriotstarbelisi valgurikkaid preparaate. Võttes arvesse aminohapete ligi 50% sisalduse rannakarbi liha kuivmassis, saab 0,5 hektari suuruse karbifarmi biomassist (80 tonni märgkaalus) valmistada 2 tonni kuiva valgühüdroolüsaati. Selline preparaat on rikas lüsiini, gluamiinhappe, leutsiini,alaniini ja glütsiini allikas ning sisaldab 50% asendamatuid aminohappeid.

Valgühüdroolüsaatide turuhind sõltub lisaks aminohapete profiilile selle rafineerituse astmest ning esinevatest tervistavatest lisanditest (vitamiinid, mineraalained, madalmolekulaarsed aktiivained). Eeldatavalt saaks rannakarbi valgühüdroolüsaati kaubastada hinnaga 20–120 EUR/kg ning rannakarbi õli hinnaga 40–140 EUR/kg.

Rannakarbi biomassist õli ja lihahüdroolüsaadi saamise tehnoloogilised lahendused on üldiselt hästi suurtootmise mahtudes skaleeritavad. Lihahomogenisaadi valmistamine saab toimuda nugaveskis ning karbikodade setitamise efektiivsus sõltub saavutatud osakese suurusest ja vedelikusamba kõrgusest. Õli eraldamisel füüsikalisel meetodil kasutatav kuumtöötlemine, dekanteerimine ja pressimine on otseselt skaleeritavad protseduurid, tsentrifuugimisel tuleb kasutada läbivoolutsentrifuugi, mis on samuti skaleeritav tehnoloogiline lahendus. Kuivatamine on hästi skaleeritav tunnelkuivatuse või spreikuivatuse rakendamisel. Õli eraldamise keemilise meetodi puhul on orgaaniliste solventide rakendamisel oluline nende regenereerimine või nõuetekohane utiliseerimine. Ülekritilise ekstraktsiooni rakendamine eeldab sobiva suurusega reaktorite olemasolu, tööparameetrite (rõhk, temperatuur, kontakiaeg) püsivate väärtuste juures ei muutu suuremate ekstraktorite kasutamisel oluliselt ekstraktsiooniprotsessi efektiivsus. Ensümaatiline meetod on täielikult skaleeritav ning sobiva ensüümi ja lihamassi suhte korral toimub hüdroolüüs suurel skaalal väikesemahulisele töötlemismetodile sarnaselt.

Tulevikuperspektiivid. Hindamaks Läänemere tingimustes kultiveeritud rannakarbi väärimise potentsiaali süvitsi ning detailsema tasuvushinnangu koostamiseks on vaja täiendavate uuringute käigus selgitada järgmisi biomassiga seonduvaid aspekte.

- 1) Rannakarbi biomassi keemilise koostise sesoonne varieeruvus. Käesolevas töös näidati, et rannakarbi liha osakaal kogubiomassis ning õli sisaldus lihas varieeruvad suurtes piirides ning sõltuvad biomassi kogumise



ajast. Esialgsed tulemused näitavad, et suurim oli liha ja õli kogus suvel korjatud biomassis. Siiski ei ole täpselt teada, millal peaks biomassi kõige parema kvaliteediga õli ja valgupreparaatide saamiseks koguma.

- 2) Kuna suvel kogutud biomass on väärindamise seisukohast kõrgema kvaliteediga, siis on vaja täiendavalt selgitada, kas ja millistes kogustes võivad suvises biomassis akumuldeeruda tsüanobakterite poolt produtseeritud toksiinid. Tarvis on tuvastada markerimolekulid nende toksiinide kiireks ja täpseks kvantifitseerimiseks.
- 3) Vaja on selgitada, millisel määral ja millises suunas muudab tõruvähi lisand rannakarbi biomassist saadava valgupreparaadi ja õli kvaliteedinäitajaid. Käesolevas töös selgus, et ka tõruvähi liha sisaldab kasulikke omega-3 rasvhappeid ning selle liha on rikas asendamatute aminohapete allikas. Võrrelduna rannakarbi liha tagasihoidliku aroomiga, on tõruvähil tugevam ja koorikloomale iseloomulik lõhn. Tõruvähi kest sisaldab lisaks kaltsiumkarbonaadile ka kitiini. Sellest tulenevalt tuleb katsete tulemusel tuvastada, milline rannakarbi ja tõruvähkide suhe biomassis annab optimaalseima väärindamispotentsiaali ning milliseid täiendavaid kõrgväärtuslikke komponente (nt kitiin, antioksidandid, pigmendid) võiks tõruvähi-rikkast biomassist saada.



Kokkuvõte

Rannakarpide kasvatamine ja nende positiivne keskkondlik mõju

Uurisime rannakarbi kasvatamise potentsiaali Tagalahte paigaldatud töönduslikus karbifarmis. Eesti oludes sobivad rannakarbi kasvatamiseks kõige paremini eritüübilised suurema läbimõõduga kareda pinnaga köied. Ühe pooleteise aastase kasvutsükli jooksul kasvavad karbid Tagalahe farmis keskmiselt 2 cm **pikkuseks** ning 0,5 hektarilise farmi **saagikus** on hinnanguliselt 70–80 tonni karbimassi märgkaalus. Kasvutsükli pikendamisel kahe aastani võib saavutada karbifarmis umbes 100 tonnist saagikust.

Kookoskiust valmistatud köisi võib pidada väga heaks keskkondlikuks alternatiiviks karpide kasvatamisel, kuna selle lagunemisel ei vabane merre mikroplasti ning karpide kasvukiirus kookosköiel on sama, mis traditsioonilistel plastikust substraatidel. Vaid umbes aastase inkubatsiooniperioodi jooksul oli kookosköiele kinnitunud karbid kasvanud 1 cm pikkuseks, mis vastas karpide kasvukiirusele traditsioonilistel karbikasvatustiliinidel.

Karpide kasvupotentsiaali **ruumiline modelleerimine** näitas, et suuremad saagikused on iseloomulikud Läänemere avaosa piirkonnale so. merealadele, mis jäävad Saaremaast ja Hiiumaast põhja ning läände. 0,5 hektariline karbifarm eemaldab veesambast pooleteise aasta jooksul kokku 2400 kg lämmastikku ja 300 kg fosforit. Kokku ladestub 0,5 hektarilise farmi karpides kasvutsükli jooksul 750 kg lämmastikku ja 45 kg fosforit. Seega filtreerivad karbid veesambast välja 3,2 korda enam lämmastikku ja 6,7 korda enam fosforit, kui ladestub nende kehas ning karpide positiivne keskkondlik mõju on oluliselt suurem, kui pelgalt karpidesse ladestatud toitainete hulk. Sellest tulenevalt on ka sellistel karbikasvatustel, millelt saaki ei koristata, praktiliselt sama suur **positiivne keskkondlik mõju** kui nendel karbifarmidel, millest saak regulaarselt eemaldatakse.

Lääne-Eesti rannikumere tingimuste jaoks loodud üldistatud **majandusmudel** rannakarpide kasvatamise väärtusahela kohta näitas, et rannakarbi kasvatamine on majanduslikult mõttekaks tegevus. Tegevuse kasumikkuse määrab ära peamiselt kaks faktorit, karbifarmi saagikus ja saagi kokkuostu hind. Nende kahe tunnuse maksimeerimisel on võimalik karbikasvatamise tulubaasi oluliselt kasvatada. Mõistlik on karpe kasvatada suuremal pindalal kui vaid 0,5 hektaril. Majanduslikult mõttekas karbikasvatuse lahendus võiks sellest olla vähemalt 10 korda suurem, et tagada ettevõttele piisav tulubaas ning toimida sõltumatult riiklikest toetustest. Juhul kui sarnane farm rajatakse sobivasse karbikasvatuse piirkonda Eestis, oleks võimalik selliselt lahenduselt minimaalselt tulu teenida 0,5 miljonit eurot (arvestades karpide kokkuostu hinnaks vaid 200 eurot tonni kohta). Juhul, kui karpe on võimalik müüa kallima hinnaga ja/või plaanis on toodangut väärindada, tulubaas oluliselt suureneb.

Keskkonnahoiu vaatest võimaldavad karbikasvatused siduda veest liigseid toitaineid ehk pakuvad **ökosüsteemi hüve** selle mõiste kitsamas tähenduses. Sellest tulenevalt võimaldab karbikasvatuste rajamine **arendada ka teisi vesiviljelussuundi**. Näiteks multitroofne vesiviljelussüsteem, milles kultiveeritakse merekarpe ja kalu, võimaldab hoida neto toitainete emissiooni merre nullilähedasena.

Kõige perspektiivsem on karbikasvatust Eestis arendada kahes suunas. Esiteks on mõistlik karpidest toota **kõrgema lisandväärtusega tooteid**, näiteks väärindada seda inimtoiduks. Teine (kuid eelmist arengut mitte välistav) võimalus on, et karbikasvatuse põhifookus jääb karpide toitainete sidumise võimele ning kalakasvatuse **negatiivsete keskkonnamõjude kompenseerimisele**. Sellele kujuneb välja turuhind, mis lõpptarbija vaatest hakkaks sisuliselt kajastuma sumbas kasvatatud kala hinnas.



Rannakarbi keemiline koosseis ja karbibiomassi väärindamise potentsiaal

Rannakarbifarmist kogutud **kuivkaalus biomass** koosneb 90% ulatuses rannakarpidest ja 10% ulatuses tõruvähkidest. Rannakarbi märgmassis on 47–65% vett ja 35–53% kuivainet. Kuivainest 13–30% moodustab **liha** ja 70–87% **kojad**. Sügiskuudel korjatud rannakarbi liha osakaal kuivmassist on 13–16%, suvel korjatud karpide puhul on see pea 2 korda suurem (ca 30%; tuleneb kõrgemast õlisisaldusest). Rannakarbi **liha veesisaldus** on 86%, **kuivainet** on seega 14%. Liha kuivaine tuhasisaldus on 7%, millest 1% on karbonaatne. Rannakarbi kodade tuhasisaldus on 94%, millest 40% on karbonaatne. Mahuarvestuses on 1 liitris värskes rannakarbi koguses (vastab 600 g märgmassile) on umbes 250 g kuivainet ja sellises koguses sisalduva puhta liha kuivmass jääb hinnanguliselt 40 g juurde, ülejäänud moodustavad peamiselt mineraalained.

Käsitsi on kõige lihtsam rannakarbi liha eraldada kodadest keedetud või arutatud rannakarpidest, sest kuumtöötlemise käigus avanevad kojapoolmed ja liha eraldub osaliselt kodadest. Kõige keerulisem on liha ja koda teineteisest eraldada värsketest ja õhu käes (sh ka ahjus) kuivatatud biomassist (liha kleepub õhukese kihina kodade külge). Eelpool mainitud variandid ei sobi liha ja kodade osakaalude ega kuivainesisalduste selgitamiseks. Parim variant selleks on külmkuivatus ja sellisena töödeldud biomassi kasutamine.

Läänemeres kasvanud rannakarbi väikeste mõõtmete tõttu ei ole see rannakarp otse toiduks kasutatav. Kuna liha ei eraldu koja küljest ka peale keetmist või aurutamist, siis lihtne võimalus rannakarbi liha töenduslikult kätte saada, on rannakarbid eelnevalt purustada ning tekkinud massist eraldada lihahomogenisaat, mille edasisel töötlemisel on võimalik eraldada näiteks valgud, aminohapped ja õlid.

Optimeerisime erinevaid tootmistehnoloogilisi etappe, et energiakulu oleks minimaalne ning proteiinisaagis suurim. Tootmisprotsessi käigus oli võimalik saada 1 tonnist karbimassist kokku 129 kg **proteiinimassi**. Tegemist on väga hea tulemusega, kuna laboritingimustes mõõdeti samade karpide liha osakaaluks kogu biomassis 13–16%. Protsessi käigus valminud proteiinipulber tuli heledavärviline, mistõttu saab seda toodet väga edukalt kasutada erinevate segude valmistamiseks.

Rannakarbi liha kuivmassist moodustab 7–23% **õli**, mille **rasvhapetest** esineb enim palmitiinhapet (27–31%), dokosaheksaeenhapet (DHA, 8–25%), eikosapentaeenhapet (EPA, 7–19%) ja palmitoleenhapet (3–16%). Õli ja polüküllastumata oomega-3-rasvhapete sisaldus rannakarbi lihas sõltub olulisel määral rannakarbi kogumise ajast – suvel kogutud biomassis on õli sisaldus märkimisväärselt suurem ning rasvhapete profiil erineb mõnevõrra sügisel kogutud proovide omast. Summaarse polüküllastumata oomega-3-rasvhapete DHA ja EPA sisalduse (16–43%) poolest on rannakarbi õli atraktiivne (inim)toidu komponendina ja võiks konkureerida lõheõli (EPA + DHA 20%) ja tursaõliga (EPA + DHA 30%). Söödava rannakarbi kodade pinnal elava tõruvahi liha on samuti rikkalik polüküllastumata oomega-3-rasvhapete allikas (DHA + EPA sisaldus 35,6%), mistõttu ei vähenda selle kaasneva liigi olemasolu biomassis õli kvaliteeti.

Rannakarbi liha kuivmassis **valkude koosseisus olevate aminohapete** sisaldus jääb vahemikku 46–50%, asendamatute aminohapete kogusisaldus on 20–23% ning nende osakaal aminohapete kogusisaldusest on 44–50%. Aminohapetest esineb rannakarbi lihas ja valgupreparaatides enim glutamiinhapet (8%) ja lüsiini (7%). Rohkesti leidub leutsiini ja glütsiini (4%) ning asparagiinhapet jaalaniini (3%). Valkude koosseisus esinevate aminohapete profiil on suhteliselt püsiv ja ei sõltu olulisel määral rannakarbi kogumise ajast ning prepeareerimise tehnikast.

Rannakarbi lihas ja selle preparaatides on **vabasisid aminohappeid** vähesel määral, kuivmassist vaid 0,5–1,0%, millest asendamatute aminohapete osakaal on 25–35%. Peamise osa vabadest aminohapetest nii lihas, nõrgvees kui ka biomassi lahustuva fraktsioonis moodustavad glutamiinhape, arginiin jaalaniin.

Külmutatud rannakarbi sulatamisel eralduva nõrgveega kandub osa valgulisi komponente biomassist välja – nõrgvee kuivmass sisaldab aminohappelisi komponente 30%. Purustatud rannakarbi biomassi lahustuva komponendi kuivmassis sisaldub aminohappelist osa 40%. Liha ensüümtötlusel alkalaasiga on võimalik praktiliselt kõigi valguliste komponentide lahustamine – saadud lahustuva fraktsiooni kuivaine sisaldas aminohappeid 46%, lahustumatus fraktsioonis aga vaid 0,1%.

Võttes aluseks, et rannakarbi mägmassis sisaldub keskmiselt 36% kuivainet, millest keskmiselt 18% on liha ning selles sisaldub omakorda 7–23% õli, saab ühest tonnist värskest rannakarbist teoreetiliselt 4–15 kg õli ja 50–60 kg valgurikast kuivpreparaati. Karbifarmist, mille saagikus on 80 tonni biomassi märgkaalus, saaks õli 0,35–1,18 tonni ning valgupreparaati 4–4,8 tonni. Rannakarbi biomassist õli ja lihahüdrolüsaadi saamise tehnoloogilised lahendused on üldiselt hästi suurtootmise mahtudesse skaleeritavad, kuid tegelikud saagikused sõltuvad suurel määral töötamiseks valitud tehnoloogilisest lahendusest. Eeldatavalt saaks rannakarbi valguhüdrolüsaati kaubastada hinnaga 20–120 EUR/kg ning rannakarbi õli hinnaga 40–140 EUR/kg.

Kuna Läänemere tingimustes kasvanud söödava rannakarbi biomass on töenduslikult kasutatav vaid tervikuna (st koos kõigi selles esinevate teiste liikide ja võõrosistega), siis vaatluse alla tuleks võtta ka teised selles sisalduvad orgaanilise aine rikkad komponendid ja hinnata nende osakaalu ja potentsiaalset mõju biomassist saadavate preparaatide keemilisele koostisele. Enim võivad rannakarbi lihafraktsioonide, valgupreparaatide ja õli koostist mõjutada biomassis esinevad tõruvähid (osakaal rannakarbi biomassi kuivkaalust 10%). Detailsema tasuvushinnangu jaoks oleks vaja täiendavate uuringute käigus selgitada mõningaid biomassiga seonduvaid aspekte (sh tsüanobakterite poolt produtseeritud toksiinide sesoonset varieeruvust, tõruvähkide mõju biomassist saadava valgupreparaadi ja õli kvaliteedinäitajatele).

Summary

Farming of mussels and their positive environmental impact

We investigated the potential of mussel farming in an industrial mussel farm installed in Tagalaht. The most suitable ropes for mussel cultivation are of a larger diameter and a rough surface. During one and a half year growth cycle, mussels at Tagalaht farm grow to an average length of 2 cm and the yield of a 0.5 ha farm is estimated at 70-80 tonnes of mussel mass per wet weight. By extending the growth cycle to two years, a yield of about 100 tonnes can be achieved on a mussel farm.

Coconut fibre ropes can be considered as a very good environmental alternative for shellfish farming, as no micro-plastics are released into the sea during deployment and the growth of mussels on coconut ropes is the same as on traditional plastic substrates. After only about a year of incubation, the mussels attached to the coconut rope had grown to 1 cm in length, which was equivalent to the growth rate of mussels on traditional culture lines.

Spatial modelling of mussel growth potential showed that higher yields are characteristic of the Baltic Proper, i.e. the marine areas north and west of Saaremaa and Hiiumaa Islands. A 0.5 ha shellfish farm removes a total of 2400 kg nitrogen and 300 kg phosphorus from the water column over a cultivation cycle of year and a half. In total, 750 kg of nitrogen and 45 kg of phosphorus are accumulated in mussels. Thus, the mussels filter out 3.2 times more nitrogen and 6.7 times more phosphorus from the water column than is accumulated in their bodies, and the positive environmental impact of mussels is significantly greater than the amount of nutrients accumulated in their bodies alone.



A generalised economic model of the value chain of mussel farming showed that mussel farming is an economically viable activity in Estonia. The profitability of the activity is mainly determined by two factors, the yield of the mussel farm and the purchase price of the harvested mussels. By maximising these two values, the revenue base of mussel farming can be increased significantly. It makes sense to grow mussels on a larger area than just 0.5 ha. An economically viable shellfish farming solution could be at least 10 times larger than this to ensure a sufficient income base for the farm and to operate independently of public subsidies.

From an environmental point of view, shellfish farms allow for the removal of excess nutrients from the water, i.e. they provide an ecosystem service in the narrow sense. Consequently, the establishment of shellfish farms also allows the development of other forms of aquaculture. For example, a multitrophic aquaculture system, which cultivates marine mussels and fish, can keep net nutrient emissions to the sea to zero.

Chemical composition of mussels and the potential for biomass valorisation

The dry weight biomass harvested from mussel farms is composed of 90% mussels. Of the dry matter, 13-30% is meat and 70-87% is shells. Due to the small size of mussels grown in the Baltic Sea, they are not directly edible. As the meat does not separate from the shell even after cooking or steaming, a simple way of obtaining the mussel meat for industrial purposes is to crush the mussels beforehand and extract the meat homogenate from the resulting mass, which can then be processed to extract, for example, proteins, amino acids and oils.

We optimised the different production steps to minimise energy consumption and maximise protein yield. During the production process, it was possible to obtain a total of 129 kg of protein mass from 1 tonne of mussel biomass. The protein powder obtained during the process was light in colour, which makes the product very suitable for use in various blends.

The mussel dry matter contains between 7 and 23% oil, with palmitic acid (27-31%), docosahexaenoic acid (DHA, 8-25%), eicosapentaenoic acid (EPA, 7-19%) and palmitolenic acid (3-16%) being the most abundant fatty acids. In terms of total polyunsaturated omega-3 fatty acids DHA and EPA (16-43%), mussel oil is an attractive (human) food ingredient. The amino acid composition of the proteins in the dry matter of mussel meat ranges from 46 to 50%, with the total essential amino acids ranging from 20 to 23%, and their contribution to the total amino acid content ranging from 44 to 50%. Of the amino acids, glutamic acid (8%) and lysine (7%) are the most abundant in mussel muscle and protein preparations. Leucine and glycine (4%) and aspartic acid and alanine (3%) are also abundant.

Assuming an average dry matter content of 36% in mussel biomass, of which 18% is meat, and 7–23% is oil, one tonne of fresh mussels theoretically yields 4–15 kg of oil and 50–60 kg of protein-rich dry preparation. Technological solutions for the production of oil and meat hydrolysate from mussel biomass are generally well scalable to large-scale production, but actual yields depend to a large extent on the technological solution chosen for processing.



Hinnang tegevuse tulemuslikkusele ja elluviimisele

Täna tegeleb Eesti vesiviljelussektor peamiselt kalakasvatusega ning alternatiivsed, looduskeskkonda taastavad, suunad sisuliselt puuduvad. Merekarpide kasvatamist peetakse keskkonnahoidliku majanduse lipulaevaks ning selle tegevuse perspektiivikus on välja toodud mitmetes EL direktiivides ning lokaalsetes keskkonnakaitse valdkonna seadusaktides.

Käesoleva projekti näol on tegemist esimese põhjaliku karbikasvatuse erinevaid aspekte käsitleva innovatsioonitegevusega Eestis. Projekti tulemusel selgusid Eesti olude jaoks (1) perspektiivsemad karbikasvatuse tehnoloogiad ja kasvatuse piirkonnad, (2) karpide saagikus ja toitainete eemaldamise määr reaalsetes farmides ning (3) merekarpide väärimise potentsiaal (sööt, toit, kõrge lisandväärtusega komponendid) ja nende toodete valmistamiseks vajaminevad tehnoloogiad.

Leiame, et rannakarbi innovatsiooniprojektil on Eesti jaoks suur keskkondlik ja majanduslik tähtsus. Täna on meil rahastatud mitu suurvetikate kasvatamisega seotud innovatsiooniprojekti, kuid mitte ükski neist ei toeta vetikate kultiveerimist merekeskkonnas, et eemaldada sinna aastakümnete jooksul kuhjunud toitaineid. Rannakarbi innovatsiooniprojekti abil näitasime veenvalt, et merekarpide kasvatamise abil on võimalik efektiivselt mereveest eemaldada suuri koguseid toitaineid ning selle läbi oluliselt panustada Läänemere keskkonnaseisundi parandamisse ja väärtuslike elupaikade taastamisse sh. parandada kliimamõjusid leevendava meriheina elupaiku. Karpide kasvupotentsiaali seisukohast sobivad antud eesmärgi täitmiseks eriti hästi Saaremaa ja Hiiumaa rannikumeri. Seetõttu on antud projektil lisaks vesiviljelussektori mitmekesisustamisele ka märkimisväärne positiivne keskkondlik mõju.

Innovatsiooniprojekti tulemusel tekkiks Eestisse võimekus rannakarpe mitmekesisemalt väärimada. Töötasime välja lihtsa tööndlusliku lahenduse merekarpide väärimamiseks inimtoiduks. Optimeerisime erinevaid tootmistehnoloogilisi etappe, et energiakulu oleks minimaalne ning proteiinisaagis suurim. Rannakarbi biokeemiline profileerimine näitas, et polüküllastumata oomega-3-rasvhapete sisalduse osas on rannakarbi õli väga atraktiivne (inim)toidu komponendina. Samuti sisaldas rannakarbi liha palju asendamatuid aminohappeid. Tulemustes kirjeldatud õli ja lihahüdrolüsaadi ekstrahheerimise tehnoloogilised lahendused on hästi ka suurtootmisse skaleeritavad.

Veelgi enam, meie majandusanalüüsid näitasid, et rannakarbi kasvatamine on Eestis majanduslikult mõttekaks tegevus. Karpe tuleks vaid kasvatada piisavalt suurel merealal (alates 0,5 hektarist), et tagada ettevõttele piisav tulubaas ning toimida sõltumatult riiklikest toetustest. Keskkonnahoiu vaatest võimaldavad karbikasvatused siduda veest liigseid toitaineid ehk pakuvad ökosüsteemi hüve selle mõiste kitsamas tähenduses. Sellest tulenevalt võimaldab karbikasvatuste rajamine arendada ka teisi vesiviljelussuundi. Näiteks multitroofne vesiviljelussüsteem, milles kultiveeritakse merekarpe ja kalu, võimaldab hoida neto toitainete emissiooni merre nullilähedasena. Sellise lahenduse puhul jääb karbikasvatuse põhifookus karpide toitainete sidumise võimele ning kalakasvatuse negatiivsete keskkonnamõjude kompenseerimisele. Sellele kujuneb välja turuhind, mis siis sisuliselt hakkaks lõpptarbija vaatest kajastuma sumbas kasvatatud kala hinnas.

Projekti eduloo taga oli kolm tähtsamat komponenti. (1) Väga oluline oli projekti fookus so. meie eesmärgiks oli luua karbikasvatuse lahendusi kogu väärtusahela ulatuses. Selline holistiline lähenemine võimaldas saada tulemusi, mis poleks realiseerunud, kui kasvatamise või väärimise uuringud oleks läbi viidud eraldi. (2) Innovatsioonile aitas oluliselt kaasa ka professionaalse ja mitmekesise taustaga projektimeeskond. Projekti tegevustesse oli kaasatud Eesti karbikasvatuse sektori seni ainukesed praktilise kogemusega eraettevõtjad ja juhtivad mereteadlased, mis võimaldas teoreetiliste kui ka praktiliste tegevuste kaudu luua uuenduslikke



tehnoloogiaid ja tooteid kogu väärtusahela ulatuses. (3) Projekti kirjutamise hetkel oli meil olemas väga põhjalik ja mitmekesine tegevusplaan. Innovatsiooniprojektide edu määrab väga suurel määral ära tegevuste optimaalne planeerimine. Kuna projekti alguses ei ole meil võimalik teada, millised lahendused realiseeruvad ning millised osutuvad ebaperspektiivseks, siis on oluline investeerida paralleelselt mitme suuna arendamisse, et tagada projekti lõpuks soovitud tulemus. Usume, et saime etteantud väljakutsetega suurepäraselt hakkama. Kasutasime ära ka erinevate meediakanalite potentsiaali, et avalikustada projekti tulemusi. Meil on hea meel tõdeda, et suur osa Eesti inimestest on praeguseks hästi teadlikud karbikasvatuse potentsiaalidest ja selle positiivsest keskkondlikust mõjust.

Kokkuvõttes võib öelda, et käesolev innovatsiooniprojekt elavdas oluliselt karbikasvatuse kui loodussõbraliku vesiviljelussektori arengut ning võimaldas erinevate vesiviljelussuundade integratsiooni Eestis. Realiseerides rannakarbi kasvatamise ja väärindamise väärtusahela, panustas innovatsiooniprojekt märkimisväärselt PõKa 2030 eesmärkide täitmisesse luues eeldused mere vesiviljeluse valdkonnas lisandväärtuse kasvatamiseks ning valdkondadevaheliseks koostööks, järgides samal ajal biomajanduse ja säästva arengu eesmäärke.

Projektis osalevad ettevõtted

Projektis osaleb kuus vesiviljelussektori ettevõtjat. Ettevõtete osalus on projekti seisukohast põhjendatud järgnevalt: (1) Redstorm OÜ on käesoleval hetkel ainuke Eesti vesiviljelusettevõtte, kellel on ette näidata töenduslik karbikasvatuse kogemus. Selle ettevõtte toel on võimalik integreerida erinevate vesiviljelussektorite, kala- ja karbikasvatuse, eesmäärke. (2) Est-Agar AS on pikaajalise kogemusega edukas vesiviljeluse valdkonna ettevõtte Eestis, kellel on reaalne võimekus valdkondlike tehnoloogide kaasamisel piloot-tootmisliini väljaarendamiseks. Est-Agar AS juhatuse liige Urmas Pau on ühtlasi kaasatud eksperdina Euroopa Komisjoni poolt 2014. aastal vastu võetud Läänemere regiooni Säästva Sinimeremajanduse tegevuskava elluviimise strateegia väljatöötamiseks moodustatud rahvusvahelisse töörühma. (3) Ösel AquaFarm OÜ'l on ette näidata praktiline kogemus kalakasvatuse ja looduskeskkonda taastavas vesiviljelussuunas, vetikakasvatuse valdkonnas. (4) Ösel Offshore OÜ omab oskusteavet avamere farmide sh. integreeritud lahenduste loomisel. (5) Ösel Harvest OÜ omab oskusteavet RAS tehnoloogia kasutamisest ning avamere farmide sh. integreeritud lahenduste loomisel. (6) Agro Marine OÜ'l on ette näidata praktiline kogemus karbikasvatuse valdkonnas.

Viited

- Adler, I.; Kotta, J.; Tuvikene, R.; Kaldre, K. 2022. Optimizing the processing of shellfish (*Mytilus edulis* and *M. trossulus* hybrid) biomass cultivated in the low salinity region of the Baltic Sea for the extraction of meat and proteins. *Applied Sciences*, 12, 5163.
- Kooijman, S. A. L. M. 2000. *Dynamic energy and mass budgets in biological systems*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. ISBN 9780521786089. OCLC 42912283 (<https://www.worldcat.org/oclc/42912283>).
- Kotta, J.; Futter, M.; Kaasik, A.; Liversage, K.; Rätsep, M.; Barboza, F.R.; Bergström, L.; Bergström, P.; Bobsien, I.; Díaz, E.; Herkül, K.; Jonsson, P.R.; Korpinen, S.; Kraufvelin, P.; Krost, P.; Lindahl, O.; Lindegarh, M.; Lyngsgaard, M.M.; Mühl, M.; Sandman, A.N.; Orav-Kotta, H.; Orlova, M.; Skov, H.; Rissanen, J.; Šiaulys, A.; Vidakovic, A.; Virtanen, E. 2020. Cleaning up seas using blue growth initiatives: mussel farming for eutrophication control in the Baltic Sea. *STOTEN*, 709, 136144.



Kotta, J.; Lenz, M.; Barboza, F.R.; Jänes, H.; Dal Grande, P.A.; Beck, A.; Van Colen, C.; Hamm, T.; Javidpour, J.; Kaasik, A.; Pantó, G.; Szava-Kovats, R.; Orav-Kotta, H.; Lees, L.; Loite, S.; Canning-Clode, J.; Gueroune, S.K.M.; Kõivupuu, A. 2022a. Blueprint for the ideal microplastic effect study: critical issues of current experimental approaches and envisioning a path forward. STOTEN, 838, 156610.

Kotta, J.; Stechele, B.; Kaasik, A.; Aps, R.; Orav-Kotta, H. 2022b. Töõndusliku kalapüügi ja kalakasvatusega seotud toitainete voogude modelleerimine Läänemeres ning saadud mudeli valideerimine Tagalahe kalakasvatuse näitel. Tartu Ülikool.

Roberts, E. A.; Kooijman, B. 2019. AmP *Mytilus trossulus*, version 2019/03/16.

Tartu Ülikool, 2019a. Kalakasvatuste kaudu merre suunatud lämmastiku- ja fosforikoormust kompenseerivate meetmete väljatöötamine. Kalanduse teabekeskus.

Tartu Ülikool, 2019b. Vesiviljeluse piirkondlike kavade koostamine võimaliku keskkonnasurve ohjamiseks.

Tuvikene, R., Robal, M. 2022. Läänemere tingimustes kultiveeritud rannakarbi vääristamine. Tallinna Ülikool, Loodus- ja terviseteaduste instituut.

Toetuse saaja: Tartu Ülikool
Tartu Ülikooli esindaja: Siret Rutiku, grandikeskuse juhataja
/allkirjastatud digitaalselt/

Vastutav täitja: Jonne Kotta
jonne@sea.ee