

外源添加亮氨酸提高乳酸乳球菌酸胁迫抗性

张梦汝^{1,4}, 张娟^{1,4}, 堵国成^{*1,3}, 陈坚^{1,2}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏 无锡 214122; 3. 江南大学 糖化学与生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 4. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 在乳酸乳球菌生长过程中外源添加浓度为 10 mmol/L 的亮氨酸, 可有效提高乳酸乳球菌在酸胁迫环境下的酸耐受性。在酸性环境中 (pH 5.0), 添加亮氨酸的菌株的生物量为对照菌株的 1.24 倍; 经过酸胁迫 (pH 4.0) 5 h 后, 添加亮氨酸菌株的存活率是对照菌株的 28.5 倍。进一步的研究表明, 亮氨酸的添加可提高胞内 NH_4^+ 浓度, 有效的维持酸胁迫环境下胞内 pH (pH_{in}) 的稳定, 并有效维持乳酸脱氢酶 (LDH) 的活性, 从而有效提高了乳酸乳球菌对酸胁迫的抵御能力。

关键词: 乳酸菌; 亮氨酸; 酸胁迫; 酸胁迫抗性

中图分类号: Q 936 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2015)02—0134—06

Exogenous Leucine Improved the Acid Tolerance of *Lactococcus lactis* Under Acid Stress

ZHANG Mengru^{1,4}, ZHANG Juan^{1,4}, DU Guocheng^{*1,3}, CHEN Jian^{1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry & Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 4. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The addition of leucine was proved to improve the tolerance of *Lactococcus lactis* NZ9000 to acid stress. When cultivated with leucine under acid stress (pH 5.0), the biomass of *L. lactis* NZ9000 (Leu⁺) increased 1.24 fold, compared to *L. lactis* NZ9000 (Leu⁻) (without leucine addition). After challenged at pH 4.0 for 5 h, the survival rate of *L. lactis* NZ9000 (Leu⁺) increased 28.5 fold, compared to *L. lactis* NZ9000 (Leu⁻). Further measurements indicated that the addition of leucine could improve the concentration of intracellular NH_4^+ , help to maintain the intracellular pH (pH_{in}) at a relatively high level and protect the activity of lactate dehydrogenase (LDH). Therefore, the addition of leucine could enhance the acid tolerance of *L. lactis*.

Keywords: lactic acid bacteria, leucine, acid stress, acid tolerance

收稿日期: 2014-01-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(31470160); 国家 863 计划项目(2011AA100901); 国家 973 计划项目(2013CB733902); 中国博士后科学基金项目(2013M540538)。

* 通信作者: 堵国成(1965—), 男, 江苏常州人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事发酵过程优化与控制及酶技术与工程领域的研究。E-mail: gcdu@jiangnan.edu.cn

乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)是一类可发酵碳水化合物并以乳酸为主要产物、不产孢子、厌氧或兼性厌氧的革兰氏阳性球菌或杆菌的总称。大多数乳酸菌作为一类重要的工业微生物,以其在食品安全性能上得天独厚的优势,被美国食品和药品监督管理局认定为食品安全级微生物(Generally Recognized as Safe, GRAS)^[1-2],广泛应用在食品、制药、饲料、精细化工等行业生产中^[3-5]。由于乳酸菌以乳酸作为主要产物,酸胁迫环境成为其生长和发酵生产中最重要、最严重的胁迫条件,严重影响其生长代谢和生理功能。如何提高乳酸菌抵抗酸胁迫的能力,成为提高其生长和发酵能力至关重要的问题。

在酸胁迫过程中,乳酸菌主要通过:调控胞内pH(pH_m)、产生碱性物质、对大分子的修复和保护等途径来抵御酸胁迫。氨基酸在乳酸菌的生长代谢和抵抗酸胁迫中,发挥着重要的生理功能。已有报道证实,乳酸菌可通过谷氨酸脱氢酶体系消耗胞内 H^+ ,将谷氨酸转化为碱性物质 γ -氨基丁酸^[6];可通过精氨酸脱羧酶途径,代谢精氨酸生成 NH_3 ^[7],这些碱性物质的产生有效维持了胞内pH的稳定。此外,添加天冬氨酸可有效提高干酪乳杆菌对酸胁迫的耐受性^[7]。

亮氨酸作为一种支链氨基酸,在细胞内代谢时可通过脱氨基的作用形成氨,从而中和胞内 H^+ ,可能是乳酸菌抵御酸胁迫的一种机制^[8]。据报道,在链球菌 *Streptococcus mutans* 中,氨基酸合成基因缺失的突变株表现出在缺少支链氨基酸培养基中生长滞后,并且胞内F1F0-ATPase活性也表现出下降,说明氨基酸代谢是 *S. mutans* 抵抗酸胁迫的一个重要机制^[9]。此外,在酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 中,亮氨酸转运相关的基因会受到酸胁迫的抑制,而亮氨酸转运相关基因的缺陷菌株表现出对酸胁迫环境的敏感^[10]。因此,研究亮氨酸对乳酸菌抗酸胁迫的作用,对应用亮氨酸改善乳酸菌以及其他工业菌株酸耐受性等后续研究具有重要的参考价值。

作者通过外源添加亮氨酸的方法,考察了亮氨酸的添加对乳酸乳球菌生长能力、存活能力的影响,通过检测胞内pH、胞内 NH_4^+ 浓度等一系列的生理指标,以及代谢关键酶:乳酸脱氢酶(LDH)的活性,反映了亮氨酸的添加对乳酸乳球菌抗酸胁迫能力的作用。

1 材料与方法

1.1 菌种

试验菌种:*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* NZ9000。

1.2 培养基及培养条件

M17培养基:购自Oxoid公司;乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000的培养基:补充5 g/L葡萄糖的M17培养基(GM17)。

培养条件:以2%接种体积分数取-70℃甘油贮存液接种于GM17培养基中,30℃静置培养12~14 h后,作为活化种子,以2%接种体积分数转接新鲜GM17培养基,30℃静置培养。

1.3 主要试剂及仪器

L-亮氨酸:上海生工生物有限公司;尼日利亚菌素、缬氨霉素、 NH_4^+ 浓度测定试剂盒:Sigma-Aldrich(上海)公司;BCECF AM(pH荧光探针)、胞内pH测定试剂盒:碧云天生物技术有限公司;乳酸脱氢酶试剂盒:南京建成生物有限公司。

650-60型荧光分光光度计:日本Hitachi公司;紫外可见分光光度计(UV2450):日本SHIMADZU公司;VCX 400型超声波破碎仪:美国Sonics & Materials公司。

1.4 方法

1.4.1 生长曲线的测定 将活化种子培养液接入GM17培养基中,30℃静置培养。每隔2 h取出3支试管,用分光光度计测量其600 nm处的吸光值,以空白培养基管为对照,平行实验重复3次,取平均值。以吸光度为纵坐标,培养时间为横坐标,绘制生长曲线。

1.4.2 最适亮氨酸添加浓度的确定 将活化种子培养液以2%接种体积分数分别接入含有5、10、15 mmol/L亮氨酸,pH为5.0(乳酸调节)的GM17培养基中,30℃静置培养,每隔2 h取出3支试管用分光光度计测量其600 nm处的吸光值,以空白培养基管为对照,平行实验重复3次,取平均值。以吸光度为纵坐标,培养时间为横坐标,绘制不同亮氨酸添加浓度下的生长曲线。

1.4.3 酸胁迫下存活率测定 根据生长曲线确定菌体生长至对数中期的时间,收集对数生长中期的菌体,离心(10 000 g, 4℃)5 min,用0.85%的生理盐水洗涤两次后,重悬于等体积的新鲜的pH 4.0(乳酸调节)的GM17中,胁迫不同时间后取样。胁迫

迫后的菌悬液经 0.85% 的生理盐水洗涤两次, 重悬于等体积生理盐水中, 取 10 μ L 重悬液稀释不同梯度, 点种于 GM17 平板上测定活菌数并计算存活率。平行实验重复 3 次, 取平均值。

1.4.4 胞内 pH 的测定 用 Breeuwer 等报道的方法测定胞内 pH(pH_{in})^[11]。

pH_{in} 的测定: 取 2 mL 生长至对数中期的细胞, 经由 pH 4.0 的乳酸胁迫 3 h, 用 50 mmol/L HEPES-K(pH 8.0) 缓冲液洗涤 2 次, 重悬于等体积的相同缓冲液, 加入 1 μ L BCECF AM, 30 $^{\circ}$ C 恒温水浴 20 min。用 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0) 洗涤 3 次后, 重悬于等体积的该缓冲液中。分别测定菌悬液的荧光强度 I_{total} 和上清的荧光强度 $I_{filtrate}$ 。激发波长为 490 nm 和 440 nm, 发射波长为 525 nm, 狭缝宽度均为 5 nm。按照如下公式计算总的荧光强度 I 。再根据 $\lg I$ 的值由标准曲线计算胞内 pH 值。测量值为同一样品的 3 个测量数据平均值。

$$I = \frac{(I_{490})_{total} - (I_{490})_{filtrate}}{(I_{440})_{total} - (I_{440})_{filtrate}}$$

pH 标准曲线的测定: 取对数生长期细胞, 通过加离子载体缬氨霉素 (1 μ mol/L) 和去除质子梯度的解耦联剂尼日利亚菌素 (1 μ mol/L) 对细胞作渗透处理, 以使 pH_{in} 与 pH_{ex} 达到平衡。用 NaOH 或 HCl 将 pH 标准曲线用缓冲液 (50 mmol/L 甘氨酸, 50 mmol/L 柠檬酸, 50 mmol/L $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, 50 mmol/L KCl) 的 pH 值分别调至 4、5、6、7、8, 然后将洗涤后的细胞分别悬浮于不同 pH 值 (pH 4~8) 的 pH 标准曲线用缓冲液中。加入 1 μ L BCECF AM, 在 30 $^{\circ}$ C 下恒温水浴 20 min, 用相应的 pH 标准曲线用缓冲液洗涤细胞 3 次, 再将细胞重悬于该缓冲液中, 测量荧光强度后绘制标准曲线。

1.4.5 胞内氨浓度的测定 取对数生长中期的菌体, 调节菌体浓度至 OD₆₀₀ 3.0, 取 10 mL 菌体经 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.5) 离心洗涤 (10 000 g, 4 $^{\circ}$ C 5 min) 两次, 重悬于 1 mL 相同缓冲液中, 冰浴超声 10 min 后, 再离心取上清液, 按照试剂盒的方法测定胞内 NH_4^+ 浓度。

1.4.6 乳酸脱氢酶(LDH)活性的测定 乳酸脱氢酶的测定根据试剂盒的方法进行。离心 (10 000 g, 4 $^{\circ}$ C 5 min) 收集发酵液, 菌体经 50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4) 缓冲液洗涤两次后重悬于相同的缓冲液中, 超声破壁 10 min, 离心取上清液测定乳酸脱氢

酶活力。每克蛋白质在 37 $^{\circ}$ C 与基质作用 15 min, 产生 1 μ mol 丙酮酸为一个单位^[12]。

2 结果与分析

2.1 乳酸乳球菌 NZ9000 生长曲线及亮氨酸添加浓度对其生长能力的影响

测定乳酸乳球菌的生长曲线见图 1。根据生长曲线确定对数期的培养时间约为 4 h。

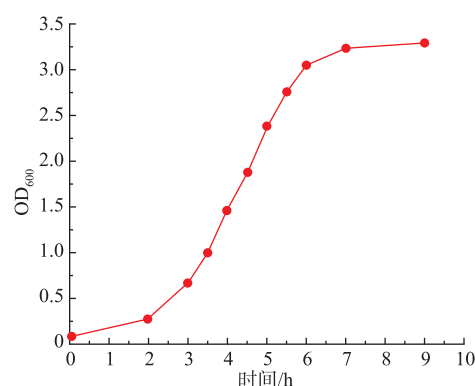


图 1 乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000 生长曲线

Fig. 1 Growth performance of *L. lactis* NZ9000

选择 pH 5.0 作为酸性胁迫下的亚致死条件, 在此条件下考察亮氨酸添加浓度分别为 5、10、15、20 mmol/L 对乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000 生长能力的影响。从图 2 可知, 在亮氨酸添加浓度为 10 mmol/L 时, *L. lactis* NZ9000 (Leu^+) 的生物量是对照菌株 *L. lactis* NZ9000 (Leu^-) 的 1.24 倍, 此时菌株生物量最高并且延迟期时间较短, 说明亮氨酸的添加有效提高乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000 在酸胁迫条件下的生长性能, 因此选择亮氨酸 10 mmol/L 作为后续研究的添加浓度。

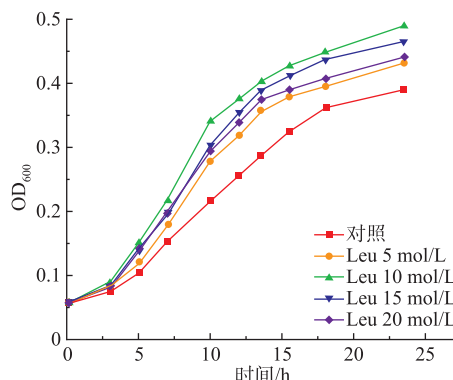


图 2 不同亮氨酸添加浓度对乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000 生长的影响

Fig. 2 Effect of different concentrations of leucine addition on the growth of *L. lactis* NZ9000

2.2 外源添加亮氨酸提高乳酸乳球菌的酸耐受性

根据以上结果发现,外源添加亮氨酸能有效的改善 *L. lactis* NZ9000 在酸胁迫环境下的生长性能。为进一步考察亮氨酸对 *L. lactis* NZ9000 胁迫抗性的影响,考察添加亮氨酸对乳酸乳球菌在酸胁迫条件下存活的影响。乳酸乳球菌生长的最适 pH 约为 6.3~6.9,随着乳酸的积累胞外 pH 不断下降,最低可降至 pH 4.5~5.0 左右^[13],而在 pH 4.0 的条件下,乳酸乳球菌的存活率下降显著,因此选择 pH 4.0 作为致死酸胁迫条件考察乳酸乳球菌的存活率^[14]。图 3 为培养在含有 10 mmol/L 亮氨酸的 GM17 培养基中的乳酸乳球菌经 pH 4.0 酸胁迫后存活率的变化情况。由图 3 可知,在前培养过程中添加了 10 mmol/L 亮氨酸的菌体(*L. lactis* NZ9000(Leu⁺))经 pH 4.0 酸胁迫处理后的存活率明显高于未添加亮氨酸(*L. lactis* NZ9000(Leu⁻))时的存活率,并且随着胁迫时间的延长,两者之间的存活率差距变大。经过酸胁迫 2 h 后,*L. lactis* (Leu⁺) 存活率是 *L. lactis* (Leu⁻) 的 2.7 倍,酸胁迫 5 h 后,*L. lactis* NZ9000(Leu⁺) 存活率为 1.22%,是 *L. lactis* NZ9000(Leu⁻) 的 28.5 倍。此结果充分表明,添加亮氨酸能有效地提高 *L. lactis* NZ9000 在酸胁迫条件下的存活率。

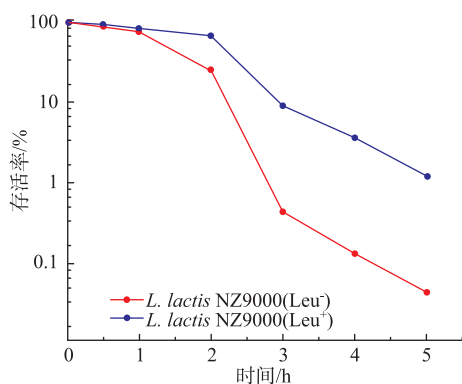


图 3 添加天冬氨酸对乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000 耐受性的影响

Fig. 3 Effect of leucine addition on the acid tolerance of *L. lactis* NZ9000

2.3 外源添加天冬氨酸对胞内 pH 及 NH₄⁺摩尔质量的影响

根据研究报道,乳酸菌在酸胁迫条件下的对酸的敏感程度主要由胞内 pH(pH_{in})控制,而乳酸导致的 pH_{in}下降,不仅影响细胞生长,更影响胞内关键酶的活性,严重威胁细胞的生存^[15]。图 4 考察了添加

亮氨酸对乳酸乳球菌胞内 pH(pH_{in})和 NH₄⁺浓度的影响。在 pH 5.0 的培养条件下,添加亮氨酸的乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000 (Leu⁺) pH_{in} 明显高于未添加亮氨酸的乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000(Leu⁻)。虽然随着培养 pH 的降低,添加亮氨酸与未添加亮氨酸菌体的 pH_{in} 均有所降低,但与 *L. lactis* NZ9000 (Leu⁻) 相比,*L. lactis* NZ9000(Leu⁺) 仍能维持较高的 pH_{in},并且在低 pH 的条件下,两者之间 pH_{in} 的差距更大:pH 6.5 时,ΔpH 为 0.11;pH 5.0 时,ΔpH 为 0.18。此结果说明,亮氨酸的添加能维持乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000 胞内 pH 的相对稳定。

图 4 考察了添加亮氨酸对胞内 NH₄⁺摩尔质量的影响。在 pH 6.5 以及 pH 5.0 的条件下,*L. lactis* NZ9000 (Leu⁺) 胞内 NH₄⁺的摩尔质量均高于 *L. lactis* NZ9000(Leu⁻),随着 pH 的降低,胞内 NH₄⁺摩尔质量均有不同程度的提高,且低 pH 条件下,两者的 NH₄⁺摩尔质量差距更大:pH 6.5 时,*L. lactis* NZ9000(Leu⁺) 的胞内 NH₄⁺摩尔质量为 0.32 nmol/mg 蛋白质,而 *L. lactis* NZ9000(Leu⁻) 的 NH₄⁺摩尔质量仅为 0.26 nmol/mg 蛋白质;pH 5.0 时,*L. lactis* NZ9000 (Leu⁺) 的胞内 NH₄⁺摩尔质量可达到 0.72 nmol/mg 蛋白质,而 *L. lactis* NZ9000(Leu⁻) 的 NH₄⁺摩尔质量仅为 0.46 nmol/mg。此结果说明,亮氨酸作为一种支链氨基酸,其代谢过程可通过脱氨基的作用产生 NH₄⁺,添加亮氨酸能显著提高乳酸菌的胞内 NH₄⁺摩尔质量,从而维持 pH_{in} 的相对稳定^[16]。

2.4 外源添加亮氨酸对乳酸脱氢酶(LDH)活性的影响

作为一类厌氧或兼性厌氧的微生物,乳酸代谢是乳酸菌最重要的产能代谢途径,而作为乳酸代谢的关键酶,乳酸脱氢酶(LDH)的活性直接影响着乳酸菌的代谢活性,研究报道,乳酸菌在胁迫条件下,LDH 的活性下降明显,因此选取乳酸脱氢酶作为反映酸胁迫条件下发酵代谢关键酶的活性变化的代表。分别测定最适生长 pH(pH 6.5)和酸性条件(pH 5.0)下的 LDH 活性,如图 5 可知,在添加亮氨酸的菌株 *L. lactis* NZ9000 (Leu⁺) 中,pH 6.5 和 pH 5.0 条件下的 LDH 活性均高于 *L. lactis* NZ9000(Leu⁻),且在低 pH 时,两者 LDH 活性差距更大:pH 5.0 时,*L. lactis* NZ9000 (Leu⁺) 的 LDH 活性为对照菌株的 1.37 倍。此结果说明,亮氨酸的添加有效地保护了乳酸乳球菌胞内关键酶的活性。

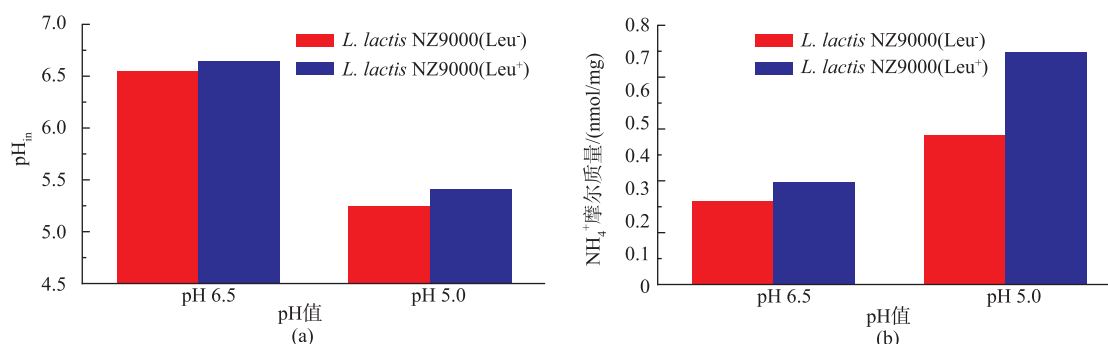


图 4 添加亮氨酸对乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000 胞内 pH(a) 和 NH₄⁺摩尔质量(b)的影响

Fig. 4 Effect of leucine addition on intracellular pH(a) and NH₄⁺ pool(b) in *L. lactis* NZ9000

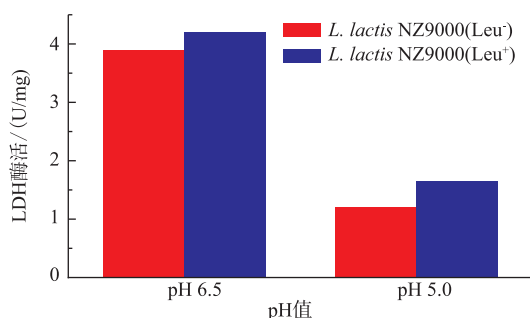


图 5 添加亮氨酸对乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000 乳酸脱氢酶(LDH) 活性的影响

Fig. 5 Effect of leucine addition on activity of LDH in *L. lactis* NZ9000

3 结 语

作者研究了外源添加亮氨酸对乳酸乳球菌酸耐受性的影响,发现亮氨酸的添加可有效提高乳酸乳球菌在酸胁迫条件下的生存能力,亮氨酸通过脱氨基的代谢,提高了胞内 NH₄⁺摩尔质量浓度,从而维持了乳酸乳球菌胞内 pH 的稳定和发酵代谢关键酶的活性。作者通过对细胞生理特征变化的研究,首次报道了在乳酸菌中亮氨酸代谢可提高细胞抵御酸胁迫的能力,为进一步揭示基于氨基酸代谢调控增强细胞的抗酸胁迫性能提供了新的思路。同时,上述研究结果对应用亮氨酸提高乳酸菌以及其他工业微生物酸耐受性有重要的参考意义。

参考文献:

- [1] Griswold A R, Chen Y Y M, Burne R A. Analysis of an agmatine deiminase gene cluster in *Streptococcus mutans* UA159[J]. *Journal Of Bacteriology*, 2004, 186(6): 1902–1904.
- [2] Walker D C, Girgis H S, Klaenhammer T R. The groESL chaperone operon of *Lactobacillus johnsonii*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(7): 3033–3041.
- [3] Burgess C. Riboflavin production in *Lactococcus lactis*: potential for in situ production of vitamin-enriched foods[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(10): 5769–5777.
- [4] Zhu Y, Zhang Y, Li Y. Understanding the industrial application potential of lactic acid bacteria through genomics[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 83(4): 597–610.
- [5] Carvalheiro F. Mannitol production by lactic acid bacteria grown in supplemented carob syrup[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2011, 38(1): 221–227.
- [6] Sanders J W. A chloride-inducible acid resistance mechanism in *Lactococcus lactis* and its regulation [J]. *Molecular Microbiology*, 1998, 27(2): 299–310.
- [7] WU C. A combined physiological and proteomic approach to reveal lactic-acid-induced alterations in *Lactobacillus casei* Zhang and its mutant with enhanced lactic acid tolerance[J]. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 2012, 93(2): 707–722.
- [8] Gossiau A. Heat shock and oxidative stress-induced exposure of hydrophobic protein domains as common signal in the induction of hsp68[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(3): 1814–1821.
- [9] Santiago B. The branched-chain amino acid aminotransferase encoded by *ilvE* is involved in acid tolerance in *Streptococcus*

- mutans*[J]. **Journal of Bacteriology**, 2012, 194(8):2010–2019.
- [10] Guillem H. A novel role for protein kinase Gcn2 in yeast tolerance to intracellular acid stress [J]. **Biochemical Journal**, 2012, 441(1):255–264.
- [11] Breeuwer P. A novel method for continuous determination of the intracellular pH in bacteria with the internally conjugated fluorescent probe 5 (and 6-) -carboxyfluorescein succinimidyl ester [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 1996, 62(1):178–183.
- [12] Hillier A J, Jago G R. 1-Lactate dehydrogenase, FDP-activated, from *Streptococcus cremoris* [J]. **Methods in Enzymology**, 1982, 89:362–367.
- [13] O’Sullivan E, Condon S. Intracellular pH is a major factor in the induction of tolerance to acid and other stresses in *Lactococcus lactis*[J]. **Applied And Environmental Microbiology**, 1997, 63(11):4210–4215.
- [14] Rallu F, Gruss A, Maguin E. *Lactococcus lactis* and stress[J]. **Antonie van Leeuwenhoek**, 1996, 70(2–4):243–251.
- [15] Cook G M, Russell J B. The effect of extracellular pH and lactic acid on pH homeostasis in *Lactococcus lactis* and *Streptococcus bovis*[J]. **Current Microbiology**, 1994, 28(3):165–168.
- [16] Sánchez B. Low-pH adaptation and the acid tolerance response of *Bifidobacterium longum* biotype longum [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2007, 73(20):6450–6459.

会 议 信 息

会议名称(中文): 2015 年能源资源与环境工程研究进展国际学术会议

会议名称(英文): ICAESEE 2015

开始日期: 2015-03-14

结束日期: 2015-03-15

所在城市: 黑龙江省 大庆市

主办单位: 东北石油大学

会议主席: 邵强教授

组织委员会主席: 王甲山教授

联系人: 钟博士

联系电话: 18102545612

会议网站: <http://www.icaesee.org/index-zh.html>

会议背景介绍: 2015 年能源资源与环境工程研究进展国际学术会议(ICAESSEE 2015)定于 2015 年 3 月 14 日至 15 日在中国黑龙江省大庆市隆重举行。会议主要围绕“能源工程和能源技术”、“环境科学和环境工程”、“电力供应系统”、“资源勘探与利用和可持续发展”、“能源经济与管理”研究领域展开讨论。旨在为能源资源与环境工程领域的专家学者及企业发展人提供一个分享研究成果、讨论存在的问题与挑战、探索前沿科技的国际性合作交流平台。欢迎海内外学者投稿和参会。