电活性生物膜生长过程中电荷与传质阻抗的变化规律

侯俊先, 刘中良*, 李艳霞, 周宇

北京工业大学环境与能源工程学院, 教育部传热强化与过程节能重点实验室, 北京 100124

* 联系人, E-mail: liuzhl@bjut.edu.cn

2016-01-18 收稿, 2016-02-23 修回, 2016-02-24 接受, 2016-04-01 网络版发表

摘要 电活性生物膜因为能直接向胞外产生电子, 将生物能直接转化成电能, 所以近年来已经成为国际领域内的研究热点. 在电活性生物膜内部, 一方面存在着复杂的生物电化学过程, 另一方面微生物及生物膜生长又涉及复杂的质量传递过程. 本文针对电活性生物膜不同生长阶段的质量传递损失和电荷传递损失展开研究, 以期找到在不同时期内其产能的限制因素, 这将对于电活性生物膜性能的改善具有至关重要的作用. 本研究结果表明, 80 h时, 电荷传递阻抗占总内阻的99.8%. 因此在电活性生物膜运行初期, 电荷传递阻抗成为限制其产能的主要因素. 随着运行时间的增长, 电荷传递阻抗的比例不断下降, 430和460 h时分别为86.9%和72.9%. 运行到500 h后, 电荷传递阻抗的比例下降到33.1%. 然而此时, 传质阻抗的占比上升到38.6%. 因此当电活性生物膜逐渐成熟时, 电荷阻抗和传质阻抗共同成为其产能的限制因素. 因此在电活性生物膜不同生长阶段, 采用不同的方法来降低其对应的内阻对提高产电性能至关重要.

关键词 电活性生物膜, 微生物燃料电池, 电化学, 传质阻抗, 电荷阻抗

探索新能源及新的能源开发利用途径与技术是我们必须应对的一大挑战. 微生物燃料电池(microbial fuel cell, MFC)是近年来在环境保护和能源领域兴起的一项新技术——利用微生物将生物质转化为电能的装置^[1~3]. 在MFC中, 阳极上生长着一层电活性生物膜(electrochemically active biofilm, EAB), 又叫阳极呼吸生物膜(anode-respiring biofilm, ARB). 电活性生物膜是由一类能向细胞外直接转移电子的胞外产电菌(exoelectrogenic bacteria)生长聚集而成的生物膜, 能向阳极直接传递电子, 在回路中形成电流. 电活性生物膜内的胞外产电菌利用阳极作为电子受体, 因为具有能将电子传递到细胞外的能力而不同于其他厌氧菌. 因此, 胞外产电菌也称为产电微生物或电活性微生物^[4~7]. 电活性生物膜因为能直接向胞外产生电子, 能将生物能直接转化成电能, 所以近年来已经成为该领域内的研究热点. 将微生物

燃料电池用于污水处理时, 电活性生物膜的主要作用是净化污水, 同时回收污水中的能量. 将微生物燃料电池装配到海泥中时, 电活性生物膜用于提取海水中的能量产生电能从而驱动海洋传感器和监控设备等. 同时, 电活性生物膜可用于生物传感器中, 探测硝酸盐、亚硝酸盐、葡萄糖或其他化学物质^[8]. 用于脱盐燃料电池中, 可在淡化海水的同时产生电能^[9]. 另外, 电活性生物膜也可以通过微生物驱动产生氢气^[10].

电活性生物膜的形成和生长对MFC的产电过程起着绝对控制作用, 在电活性生物膜内部, 一方面存在着复杂的生物电化学过程, 另一方面微生物及生物膜生长又涉及复杂的质量传递过程. 阳极上的电荷损失, 一定程度上反应了电活性生物膜内发生电化学反应能力以及电子传导能力. 阳极的传质损失, 正是生物膜与溶液间的质量传递在一定程度上控制着MFC的产电能力, 限制了功率输出密度的提高.

引用格式: 侯俊先, 刘中良, 李艳霞, 等. 电活性生物膜生长过程中电荷与传质阻抗的变化规律. 科学通报, 2016, 61: 3616–3622

Hou J X, Liu Z L, Li Y X, et al. Charge and mass transfer impedance through different growth phases of anode-respiring biofilm (in Chinese). Chin Sci Bull, 2016, 61: 3616–3622, doi: 10.1360/N972016-00065

Renslow等人^[11]首次利用脉冲梯度-核磁共振原位测得电活性生物膜内的有效扩散系数随着空间和时间的变化,研究表明随着电活性生物膜厚度的增加,生物膜内的相对有效扩散系数呈现“乙”形变化,在生物膜内的同一位置处,相对有效扩散系数随着生物膜年龄的增加而减小. Katuri等人^[12]研究表明生物膜的厚度从 $(8\pm 2)\text{ }\mu\text{m}$ 生长到 $(34\pm 6)\text{ }\mu\text{m}$ 时,电流密度增加了4.25倍,生物膜产生的电流密度随着时间逐渐增大,电极上的活性微生物也不断增多. Babauta等人^[13]利用微电极技术测试了生物膜内局部pH和氧化还原电位值的变化,电流为1.85 mA时,膜底部pH降至6.34,而1.05 mA时pH为6.5,原因是高的电流密度表明乙酸的利用速率大,从而造成的质子累积量更多,导致pH更低. Malvankar等人^[14]报道不同种群组成的电活性生物膜的导电性差异也很大,研究结果表明导电性大的生物膜产生的电流密度大.

目前对于电活性生物膜内部的传递现象还处于初级研究阶段,研究者更多关注的是电活性生物膜的种类,菌落以及内部微环境的变化,忽视了电活性生物膜生长过程中的质量传递及电荷传递的变化及其对产能的影响. 本文针对电活性生物膜不同生长阶段的质量传递损失和电荷传递损失展开研究,以期找到在不同时期时其产能的限制因素,这将对于电活性生物膜性能的改善具有至关重要的作用.

1 实验

1.1 半电池的构造

构造三电极生物半电池系统,即微生物燃料电池半反应器,本文中简称微生物半电池,如下图1所示,有效容积为300 mL,电极底座上同时装配两个大小相同的工作电极上,本研究中将厚度为3 mm,平面尺寸为5 mm×5 mm碳毡作为工作电极,铂网(2 cm×2 cm)作为对电极,Ag/AgCl电极作为参比电极. 为了消除阳极电位对电活性生物膜性能的影响,实验过程中利用恒电位仪(ZF-3,上海正方电子电器有限公司)将其中一个工作电极固定在恒电位(-0.1 V vs. Ag/AgCl)下运行,叫做电活性生物膜电极. 另一个工作电极用于对比作用,不外加极化电位,叫做无外加电位电极. 工作电极的表面积按照与溶液接触的5个面计算,如图1所示,表面积大小为85 mm².

图1 (网络版彩色)微生物半电池反应器的构型简图

Figure 1 (Color online) Half-MFC reactor

1.2 接种与运行

接种菌体取自实验室中全电池运行微生物燃料电池. 营养液由0.82 g/L CH₃COONa, 0.5 g/L NH₄Cl, 0.1 g/L NaCl, 0.1 g/L MgCl₂·6H₂O, 0.015 g/L CaCl₂, 13 g/L Na₂HPO₄·12H₂O, 1.48 g/L KH₂PO₄配置而成. 实验过程中反应器置于35℃的恒温槽中续批式运行. 营养液在通入反应器之前均先爆入氮气从而去除溶液中的溶解氧,使电活性生物膜在厌氧的条件下生长.

1.3 电化学测试

利用电化学工作站(CHI660D, 上海辰华仪器有限公司)测试循环伏安曲线(CV)和电化学阻抗谱(EIS). CV和EIS测试时均采用三电极体系,碳毡和铂网电极分别作为工作电极和对电极,Ag/AgCl电极作为参比电极. 电化学测试在电活性生物膜不同生长阶段进行,选定的生长阶段分别为生物膜生长80, 280, 430, 460和500 h,对应图2中的①, ②, ③, ④, ⑤的位置. 电化学测试前,将电极开路30 min,待系统稳定后测试. CV测试时,扫描速度为1 mV/s, EIS测试时,频率变化范围为1 mHz~10⁶ Hz,振幅为10 mV.

2 结果与讨论

2.1 电流的产生

将微生物半电池置于35℃的恒温箱中运行600 h,电流变化曲线如图2所示. 由图可知,电活性生物膜电极在-0.1 V极化电位下运行,从200 h开始,电流不断上升,这表明外加电位使电极上的电活性微生物逐渐开始附着生长,在这一段时期内,电活性微生物产生的电流较小,这是因为极化的电极表面对微生物种群有一个筛选驯化的过程,适应的种群开始在

电极表面上附着繁殖, 运行 280 h 后, 产生的电流密度达到 0.35 A m^{-2} . 随着运行时间的增加, 电活性微生物在电极表面上开始大量繁殖, 因此产生的电流呈不断上升趋势. 随着电活性微生物不断生长累积, 电极表面的活性微生物的数量越来越多, 产生的电子数量不断增多, 从而使产生的电流继续不断上升, 如图 2 中所示的 200~400 h 这段生长过程. 当电活性微生物经过 460 h 的生长繁殖后, 产生的电流有大幅度的提升, 原因是随着运行时间的增长, 电活性微生物在电极表面开始形成电活性生物膜, 生物膜的厚度不断增加, 从而产生的电子数量也成倍增加, 因此产生电流有大幅度提升. 运行 500 h 后, 电流密度达到 9.41 A m^{-2} .

图 3 所示为电活性生物膜电极与无极化电位电极的实物图, 在电极运行 550 h 后拍摄, 从图上可以清晰看出, 无极化电位电极表面呈现黑色, 为工作电极碳毡本身的颜色, 而在 -0.1 V 电位下运行的电活性生物膜电极呈现棕褐色, 这表明电极表面上已经生长着一层有一定厚度的电活性生物膜, 生物膜中的菌群可能主要由 *Geobacter Sulfurreducens* 组成, 因此呈现棕褐色^[13,15].

2.2 电化学阻抗谱

电化学阻抗谱(EIS)是电化学性能表征的有力手段, 在微生物燃料电池中, 由于阳极的性能主要受到电极反应动力学和质量扩散因素的影响, 为了弄清楚电活性生物膜生长过程中内部传质阻抗和电荷阻抗的大小与分布, 本研究中就电活性生物膜不同生长阶段的阻抗进行了测试, 图 4 为电活性生物膜不同生长时期的电化学阻抗谱, 分别在生物膜生长 80, 280, 430, 460 和 500 h 后测得, 测试点对应于图 2 中的 ①, ②, ③, ④, ⑤ 的位置.

由图 4 可知, 电化学阻抗谱由三段圆弧构成, 在本电化学系统中, 由于工作电极碳毡是多孔电极, 所以高频区出现的圆弧段代表欧姆阻抗 R_s . 根据本实验数据分析, 第二段圆弧可能为电活性生物膜阻抗 R_{bf} ^[16]. 因为在实验初期的阻抗谱上不存在第二段圆弧, 随着生物膜电极运行时间增长, 第二段圆弧逐渐出现, 并且其阻抗值也逐渐增加. 这可能是由于随着微生物在电极上生长繁殖, 逐渐形成生物膜, 由于生物膜具有多孔的性质, 因此出现了圆弧状的阻抗谱. 随着运行时间的增长, 电极上活性生物膜逐渐增厚, 从而其阻抗值增加. 观察图 4 中运行 500 h 的电活性生

图 2 (网络版彩色)微生物半电池中运行的电活性生物膜电极($-0.1 \text{ V vs. Ag/AgCl}$)电流变化曲线图

Figure 2 (Color online) Current curves of anode-respiring biofilm in Half-MFC reactor

图 3 (网络版彩色)运行 550 h 后电活性生物膜电极与无极化电位电极的实物图

Figure 3 (Color online) Pictures of anode-respiring biofilm and non-polarization electrode after 550 h operation

物膜电极阻抗谱, 可以清晰看出第三段圆弧被分成了两段小圆弧^[17,18], 这说明第三段圆弧存在两个过程: 电荷传递过程和质量传递过程^[17,18]. 电荷传递阻抗 R_{ac} 由电化学反应顺利进行需要克服活化能的能垒引起, 大小为电极表面的电子传递阻抗的拟合值. 传质阻抗表示质量扩散对电极反应的影响. 从其圆弧的形状, 可以判断电极上发生的扩散为有限扩散 Z_d ^[17,18]. 因此选用如图 5 所示的等效电路对阻抗谱进行拟合^[17-20], 其中 R_s 代表体系中的欧姆内阻, R_{bf} 代表生物膜阻抗, R_{ct} 代表体系中电极上的电荷转移阻抗, Z_d 为传质阻抗. Q_1 和 Q_2 均代表双电层电容^[19,20].

通过 Zsimpwin 软件对 EIS 进行拟合, 得到如图 6

所示的拟合结果. 从图中可得到, 不同生长时期, 欧姆内阻基本不变, 均在 $25\ \Omega$ 左右, 这与实际条件相符, 因为它们均在同半电池中测得. 对于生物膜自身阻抗, 80 h时, 阻抗谱上没有出现第二段阻抗. 因此运行初期, 生物膜自身的阻抗约为零. 但是运行280 h后, 生物膜阻抗逐渐出现, 约为 $34\ \Omega$. 当运行到500 h时, 生物膜的阻抗值最终达到 $84\ \Omega$. 这说明生物膜不断增厚, 从而导致生物膜阻抗值不断增大. 通过图6可知, 电荷传递阻抗值变化较大. 80, 280, 430, 460和500 h的电荷传递阻抗分别为12500, 2346, 996, 520和132 Ω . 这主要是由于电活性微生物在电极上不断附着生长, 逐渐形成生物膜, 从而电子产生速率和传递速率不断增加. 因此电荷传递阻抗大幅度减小. 然而, 对于传质阻抗, 却在不断增加. 这是因为运行初期, 生物膜还未形成, 因此主体溶液中有足够的底物提供给电极表面上的微生物利用, 所以这个时候传质阻抗很小. 随着运行时间的增加, 到430 h时, 传质阻抗值为 $61\ \Omega$. 随着生物膜进一步生长, 460和500 h的传质阻抗值增加到104和154 Ω . 分析原因是主要随着电活性生物膜逐渐成熟变厚, 从而传质阻抗增加. 电化学阻抗的分析结果表明, 随着电活性生物膜的生长, 电荷传递阻抗大幅度减小, 而传

质阻抗不断增加.

综上所述, 在电活性生物膜运行初期, 电荷传递阻抗是限制其产能的主要因素. 80和280 h时, 电荷传递阻抗分别占总内阻的99.8%和97.3%. 随着运行时间的增长, 电荷传递阻抗的比例不断下降, 430和460 h时分别为86.9%和72.9%. 运行到500 h时, 电荷传递阻抗的比例下降到33.1%. 而此时传质阻抗上升到38.6%. 因此当电荷性生物膜逐渐成熟时, 电荷阻抗和传质阻抗共同成为其产能的主要限制因素.

2.3 循环伏安曲线

从循环伏安曲线(CV)上, 可以得到电活性生物膜中氧化还原反应中的中心氧化还原电位. 同时也可用于确定电活性生物膜对底物的催化能力、传递电子能力以及极限电流 i_{lim} 的大小等. 图7为电活性生物膜在运行80, 280, 430, 460和500 h后所测得的CV曲线图. 80 h时的CV曲线在0.1 V附近出现了明显氧化还原峰, 由于中心电位大于0 V, 因此这对峰不是由于电活性微生物氧化还原作用所引起的, 可能是由于在运行初期, 电极上的电活性微生物还没有得到纯化存在杂菌而造成的. 由图可知, 280, 430, 460和500 h时循环伏安曲线在低的扫描速度(1 mV/s)下呈现明显的S形状,

图4 (网络版彩色)电活性生物膜在不同生长时期(80, 280, 430, 460 和 500 h)的电化学阻抗谱

Figure 4 (Color online) Nyquist plots of anode-respiring biofilm in different growth period (80, 280, 430, 460 and 500 h)

图5 等效电路图
Figure 5 Equivalent circuit

图6 电活性生物膜在不同生长时期的阻抗分布
Figure 6 Impedance value of anode-respiring biofilm in different growth period

图7 (网络版彩色)电活性生物膜在不同生长时期(80, 280, 430, 460 和 500 h)的循环伏安曲线图, 扫描速度 1 mV/s

Figure 7 (Color online) Cyclic voltammograms of anode-respiring biofilm in different growth period (80, 280, 430, 460 and 500 h), scan rate is 1 mV/s

这是电活性生物膜的CV典型曲线, 表明生物膜中的氧化还原反应与催化反应相互耦合^[12,16]. 280, 430, 460和500 h的这4个生长阶段的CV的中心氧化还原电位均约为-0.42 V, 这说明电活性生物膜中产电微

生物种群已经形成. 详细信息见表1.

随着运行时间的增加, 电极的极限电流不断增加, 运行280h的生物膜的极限电流为 0.47 A m^{-2} , 运行430 h后的生物膜的极限电流增加到 3.53 A m^{-2} , 运行460和500 h后的极限电流分别增长到7.06和 14.12 A m^{-2} . 结合EIS分析, 这是由于随着电活性微生物的生长繁殖, 电活性生物膜逐渐形成, 提高电子产生和传递速率, 大幅度降低了内阻, 从而提升产电能力. 由图2的电流变化曲线可得到, 280, 430, 460和500 h时电活性生物膜实际产生的电流也在逐渐上升, 分别为0.35, 2.59, 5.88和 9.41 A m^{-2} , 这也表明随着电活性生物膜里微生物数量的不断增多, 提高了电极的底物利用的能力, 加强电子的传递速率, 降低电荷传递阻抗, 从而增大了输出电流. 电活性生物膜的极限电流与实际产生的电流有相似的增长趋势, 所以, CV在一定程度上可以反应活性生物膜的产电能力. 综上所述, 从电活性微生物从附着、适应、生长到形成稳定的生物膜, 其催化能力以及产生电子的速率均在不断地提升.

3 结论

电活性生物膜内存在着复杂的生物电化学过程和质量传递过程. 在不同的生长阶段, 电活性生物膜内的电荷传递阻抗和传质阻抗是不断变化的, 并且电活性生物膜电极的总内阻在不断减小. 研究表明, 在电活性生物膜运行初期, 电荷传递阻抗是限制其产能的主要因素. 80和280 h时, 电荷传递阻抗分别占总内阻的99.8%和97.3%. 随着运行时间的增长, 电荷传递阻抗的比例不断下降, 运行到500 h时, 电荷传递阻抗的比例下降到33.1%. 而此时传质阻抗上升

表1 电活性生物在不同时期的CV形状以及氧化还原中电位, 极限电流和实际电流的大小

Table 1 CV shape and value of central redox potential, limiting current and real current of anode-respiring biofilm in different growth period

运行时间 t (h)	CV形状	氧化还原中 心电势 (V)	极限电流 (A m^{-2})	实际电流 (A m^{-2})
80	—	>0	—	—
280	S形	-0.42	0.47	0.35
430	S形	-0.42	3.53	2.59
460	S形	-0.42	7.06	5.88
500	S形	-0.42	14.12	9.41

到38.6%。因此当电荷性生物膜逐渐成熟时,电荷阻抗和传质阻抗共同成为其产能的限制因素。因此在电活性生物膜不同生长阶段,采用不同的方法来降低其对应的内阻对提高产电性能至关重要。

参考文献

- 1 Logan B E, Rabaey K. Conversion of wastes into bioelectricity and chemicals by using microbial electrochemical technologies. *Science*, 2012, 337: 686–690
- 2 Hou J X, Liu Z L, Li Y X, et al. Three-dimensional macroporous anodes based on stainless steel fiber felt for high-performance microbial fuel cells. *J Power Sources*, 2014, 258: 204–209
- 3 Hou J X, Liu Z L, Li Y X, et al. A comparative study of graphene-coated stainless steel fiber felt and carbon cloth as anodes in MFCs. *Bioproc Biosyst Eng*, 2015, 38: 881–888
- 4 Lewandowski Z, Beyenal H. *Fundamentals of Biofilm Research*. USA: CRC Press, 2013
- 5 Babauta J, Renslow R, Lewandowski Z, et al. Electrochemically active biofilms: Facts and fiction. A review. *Biofouling*, 2012, 28: 789–812
- 6 Borole A P, Reguera G, Ringeisen B, et al. Electroactive biofilms: Current status and future research needs. *Energy Environ Sci*, 2011, 5: 4813–4834
- 7 Li W W, Yu H Q, He Z. Towards sustainable wastewater treatment by using microbial fuel cells-centered technologies. *Energy Environ Sci*, 2014, 7: 911–924
- 8 Erable B, Duteanu N M, Ghangrekar M M, et al. Application of electro-active biofilms. *Biofouling*, 2010, 26: 57–71
- 9 Forrestal C, Xu P, Ren Z Y. Sustainable desalination using a microbial capacitive desalination cell. *Energy Environ Sci*, 2012, 5: 7161–7167
- 10 Geelhoed J S, Stams A J M. Electricity-assisted biological hydrogen production from acetate by *geobacter sulfurreducens*. *Environ Sci Tech*, 2011, 45: 815–820
- 11 Renslow R S, Babauta J T, Majors P D, et al. Diffusion in biofilms respiring on electrodes. *Energy Environ Sci*, 2013, 6: 595–607
- 12 Katuri K P, Rengaraj S, Kavanagh P, et al. Charge transport through *geobacter sulfurreducens* biofilms Grown on graphite rods. *Langmuir*, 2012, 28: 7904–7913
- 13 Babauta J T, Nguyen H D, Harrington T D, et al. pH, redox potential and local biofilm potential microenvironments within *geobacter sulfurreducens* biofilms and their roles in electron transfer. *Biotech Bioeng*, 2012, 109: 2651–2662
- 14 Malvankar N S, Tuominen M T, Lovley D R. Biofilm conductivity is a decisive variable for high-current-density *geobacter sulfurreducens* microbial fuel cells. *Energy Environ Sci*, 2012, 5: 5790–5797
- 15 Jana P S, Katuri K, Kavanagh P, et al. Charge transport in films of *geobacter sulfurreducens* on graphite electrodes as a function of film thickness. *Phys Chem Chem Phys*, 2014, 16: 9039–9046
- 16 Dominguez B X, Sevda S, Vanbroekhoven K, et al. The accurate use of impedance analysis for the study of microbial electrochemical systems. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 7228–7246
- 17 Heijne A T, Schaetzle O, Gimenez S, et al. Analysis of bio-anode performance through electrochemical impedance spectroscopy. *Bioelectrochemistry*, 2015, 106: 64–72
- 18 Sun D, Call D, Wang A, et al. *Geobacter* sp. SD-1 with enhanced electrochemical activity in high-salt concentration solutions. *Environ Microbiol Rep*, 2014, 6: 723–729
- 19 He Z, Wagner N, Minter S D, et al. An upflow microbial fuel cell with an interior cathode: Assessment of the internal resistance by impedance spectroscopy. *Environ Sci Tech*, 2006, 40: 5212–5217
- 20 Yin Y, Huang G T, Tong Y R, et al. Electricity production and electrochemical impedance modeling of microbial fuel cells under static magnetic field. *J Power Sources* 2013, 37: 58–63

Charge and mass transfer impedance through different growth phases of anode-respiring biofilm

HOU JunXian, LIU ZhongLiang, LI YanXia & ZHOU Yu

College of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China

Electrochemically active biofilms (EABs) respire in a unique form in which they utilize solid external materials as terminal electron acceptors for their metabolism. When microorganisms use anodes of microbial fuel cells (MFCs) or microbial electrolysis cells (MECs) and so on for respiration, they are called “anode-respiring biofilm (ARB)”. There were complex bio-electrochemical and mass transfer processes as ARBs grew in bioreactors. Currently, very little real time data is available characterizing charge and mass transfer impedance during ARB formation. In the present study, ARB was cultivated in a three-electrode bioreactor for about one month. We measured charge and mass impedance to find out the limiting factors for power output through different phases of ARB growth. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) was also used to investigate the charge and mass transfer impedance, while Cyclic Voltammetry (CV) was used to measure the electrochemical activities. CV and EIS were all measured at five different times (80, 280, 430, 460 and 500 h) during ARB formation. Current density curve shows that power output of ABR increased as biofilm grew and it goes up from 0.35 A m^{-2} at 280 h to 9.41 A m^{-2} at 500 h. CVs also illustrated that the electron transfer rate of ABR increased greatly over time. We can observe that the limiting current density from CVs has a similar trend with the current curve of ARB which demonstrates that the current generation ability of ABR increases during biofilm formation.

Impedance value of anode-respiring biofilm displays that ohmic resistance is around 25Ω showing little change. However, charge transfer impedance goes a downward trend. They are 12500, 2346, 996, 520 and 132Ω respectively at these five different time which drops sharply with biofilm growing. The reason is that the microorganisms inside ARB increases significantly especially operating after 460 h, which increases the substrate utilization rate and electron transfer rate of ABR greatly. However, mass transfer impedance shows an upward trend over time. We found that charge transfer resistance accounts for 99.8% and 72.9% respectively, at 80 and 460 h. But it keeps dropping to just around 33.1% at 500 h, which demonstrates that charge transfer process is the limiting factor of current production at the beginning of operation. But it keeps dropping to just around 33.1% at 500 h proving that mass transfer process gradually plays an important role in power output of ARB when biofilm is mature. Therefore different methods to be used for reducing the charge or mass transfer resistance during ARB formation in bio-electrochemical system is of great importance to improve its electrochemical performance.

anode respiring biofilm, microbial fuel cell, power output, charge transfer impedance, mass transfer impedance

doi: 10.1360/N972016-00065