

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η μικροβιολογία είναι η επιστήμη που ασχολείται με τη μελέτη των μικροοργανισμών. Μιας μεγάλης και διαφοροποιημένης ομάδας μικροσκοπικών οργανισμών, τους οποίους συναντάμε ως μεμονωμένα κύτταρα ή συμπλέγματα κυττάρων
- Ένα απλό μικροβιακό κύτταρο είναι σε θέση να πραγματοποιεί τις βιολογικές διεργασίες ανάπτυξης, παραγωγής ενέργειας και αναπαραγωγής ανεξάρτητα από άλλα κύτταρα του ίδιου ή άλλο είδους

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Μικροοργανισμοί και επιδημίες:
 - ❖ *Yersinia pestis*
 - ❖ *Rickettsia prowazekii*
 - ❖ *Phytophthora infestans*
 - ❖ *Clostridium acetobutylicum*

- Διαμάχη για την αυτόματη γένεση:
 - ❖ Lazzaro Spallanzani
 - ❖ Louis Pasteur

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

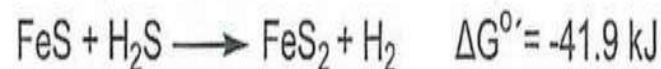
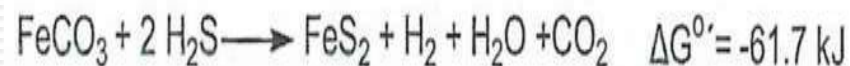
- Η ανάπτυξη των αντιβιοτικών:
 - ❖ Τη βάση της ανάπτυξης των αντιβιοτικών την έθεσε ο Alexander Fleming
- Τα πρώτα βήματα της ζωής:
 - ❖ Κατά τους πρώιμους χρόνους της Γης η ατμόσφαιρα είχε αναγωγικό χαρακτήρα (CH_4 , CO_2 , CO , N_2 , NH_3 , H_2 , H_2S , PH_3 , H_2O)
 - ❖ Επικρατούσε έντονη ηφαιστειογενής δραστηριότητα
 - ❖ Υδροκυάνιο παράγονταν από την αντίδραση της αμμωνίας με μεθάνιο

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Μεταβολισμός των πρωτόγονων μικροοργανισμών:
 - ❖ Εξαιτίας των αναγωγικών συνθηκών οι πρώτοι μικροοργανισμοί ήταν σε θέση να διεξάγουν μια μορφή αναερόβιου μεταβολισμού που περιελάμβανε:
 - Χημειοργανότροφες
 - Χημειολιθότροφες
 - Φωτότροφες μεταβολικές διεργασίες
 - ❖ Πιθανότατα τα αρχέγονα κύτταρα δεν διέθεταν πολύπλοκο μηχανισμό μεταβολικών αντιδράσεων
 - ❖ Οι ενεργειακές αντιδράσεις απαιτούσαν μερικές πρωτεΐνες

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Μεταβολισμός των πρωτόγονων μικροοργανισμών:
 - ❖ Ένας δυνητικός μηχανισμός περιλαμβάνει τη χρήση ενώσεων του σιδήρου, οι οποίες αντιδρώντας με υδρόθειο σχηματίζουν πυρίτη με απελευθέρωση H₂



- ❖ Οι δύο αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα εξώεργα (αρνητικό ΔG) και παρέχουν αρκετή ενέργεια για τη σύνθεση ATP ή άλλων ενεργοποιημένων μορίων

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

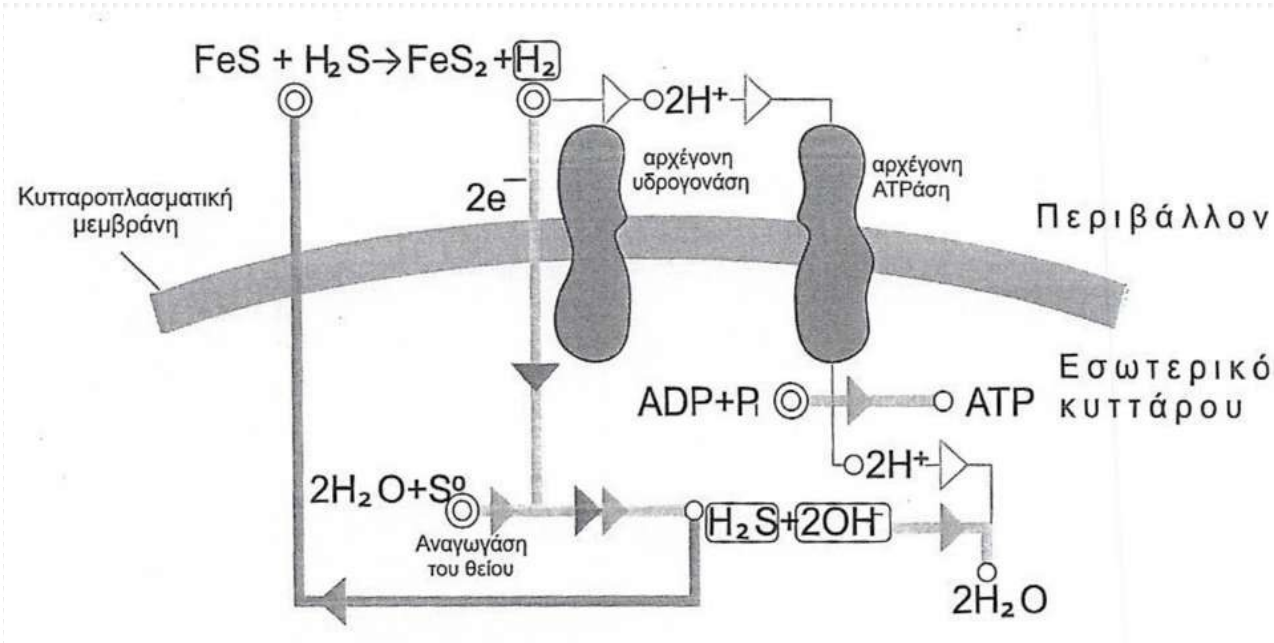
- Τα πρώτα βήματα της ζωής:
 - ❖ Οι αρχέγονοι μικροοργανισμοί λοιπόν θα πρέπει να ήταν βιοχημικά ιδιαίτερα απλοί, με την έννοια ότι διέθεταν λίγα μόνο ένζυμα.
 - ❖ Στερούντο επίσης κυτοχρωμάτων και οργανιδίων κίνησης (μαστίγια)
 - ❖ Με το πέρασμα του χρόνου και τις ιδιαίτερα μεταλλαξιόγόνες συνθήκες της Γης, εμφανίστηκαν νέες μεταλλάξεις
 - ❖ Οι πρώτοι φωτότροφοι οργανισμοί ήταν μη-οξυγονογενείς, χρησιμοποιούσαν φως για σύνθεση ATP και ανηγμένες ανόργανες ενώσεις, π.χ. H_2S , ως πηγή ηλεκτρονίων.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Τα πρώτα βήματα της ζωής:
 - ❖ Ένα μνημειώδες βήμα στην εξέλιξη των μικροοργανισμών έλαβε χώρα με την ανάπτυξη της αντίδρασης της φωτοσύνθεσης,
 - ❖ Κατέστη εφικτή τη χρήση των ατέλειωτων ποσοτήτων H_2O ως ηλεκτρονιακού δότη, αυξάνοντας ταυτόχρονα την αποδοτικότητα.
 - ❖ Το O_2 σταδιακά συσσωρεύτηκε και η ατμόσφαιρα μεταβλήθηκε από ισχυρά αναγωγική σε οξυγονωμένη.
 - ❖ Με τη διαθεσιμότητα του O_2 ως τελικό ηλεκτρονιακό δέκτη, εξελίχθηκαν οι αερόβιοι οργανισμοί

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

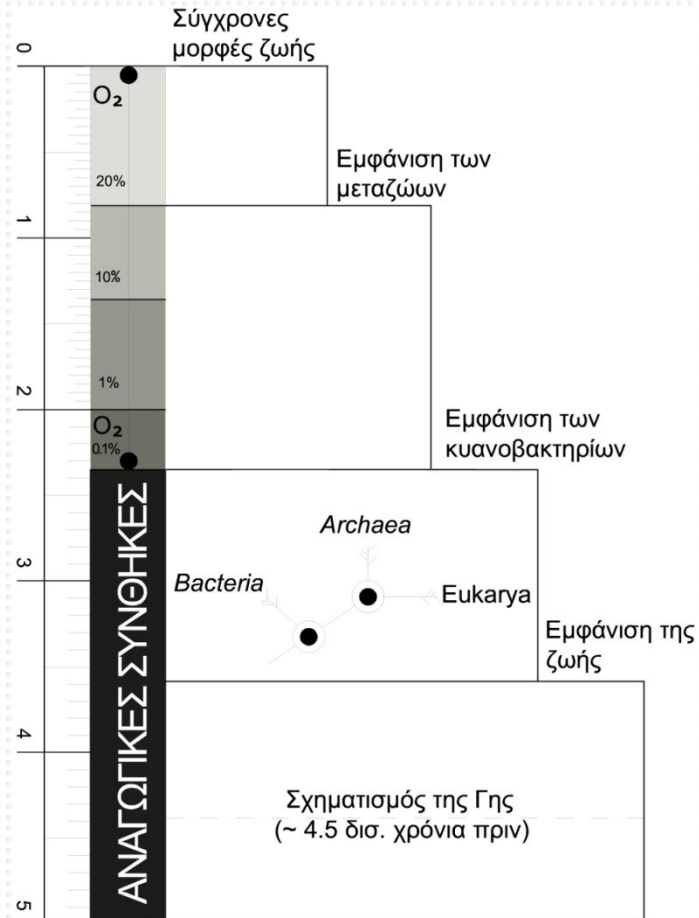
- Τα πρώτα βήματα της ζωής:



Υποθετικό σχήμα ενεργειακής παραγωγής σε αρχέγονους μικροοργανισμούς.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

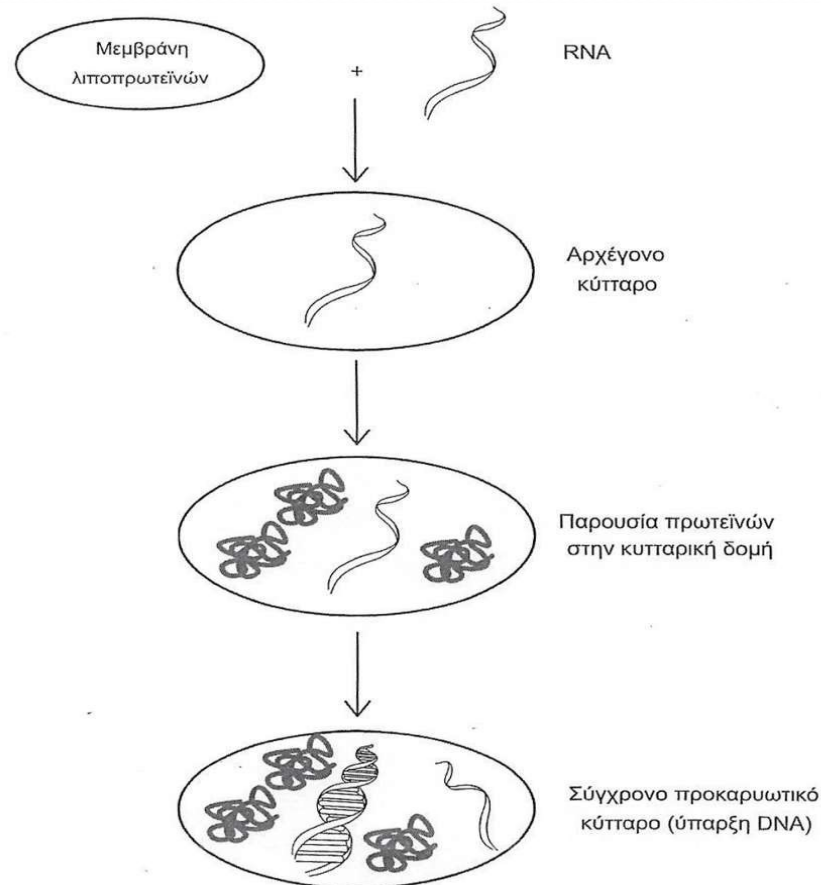
- Τα πρώτα βήματα της ζωής:



Ακρογωνιαίοι λίθοι της βιολογικής εξέλιξης

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Τα πρώτα βήματα της ζωής:



Πιθανό εξελικτικό σενάριο

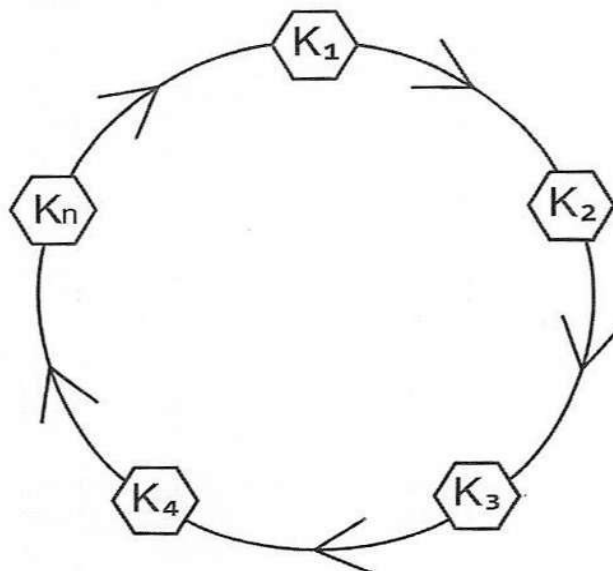
Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Τα πρώτα βήματα της ζωής:

Όλες οι βιοχημικές αντιδράσεις καταλύονται από ένζυμα.

Διαφορετικά ένζυμα δρουν πολλές φορές από κοινού, δίνοντας έναν καταλυτικό κύκλο, π.χ. ο κύκλος του Krebs.

Ένας καταλυτικός κύκλος αντιπροσωπεύει ένα υψηλότερο επίπεδο καταλυτικής οργάνωσης, όπου το προϊόν που σχηματίζεται σε κάθε βήμα, είναι καταλύτης της επόμενης αντίδρασης



Καταλυτικός υπερ-κύκλος

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Τα πρώτα βήματα της ζωής:

❖ Από συγκρίσεις των αλληλουχιών βάσεων DNA γνωρίζουμε ότι οι τρεις κύριες γραμμές εξέλιξης, που αφορούν στα βακτήρια, στα αρχαία και στα ευκαρυωτικά, εδραιώθηκαν σε ένα σχετικά πρώιμο στάδιο

❖ Μεγάλη αποδοχή βρίσκει σήμερα η υπόθεση ότι τα σύγχρονα ευκαρυωτικά κύτταρα εξελίχθηκαν μέσω ενσωμάτωσης χημειοοργανότροφων και φωτότροφων συμβιωτών σε αρχέγονα ευκαρυωτικά.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

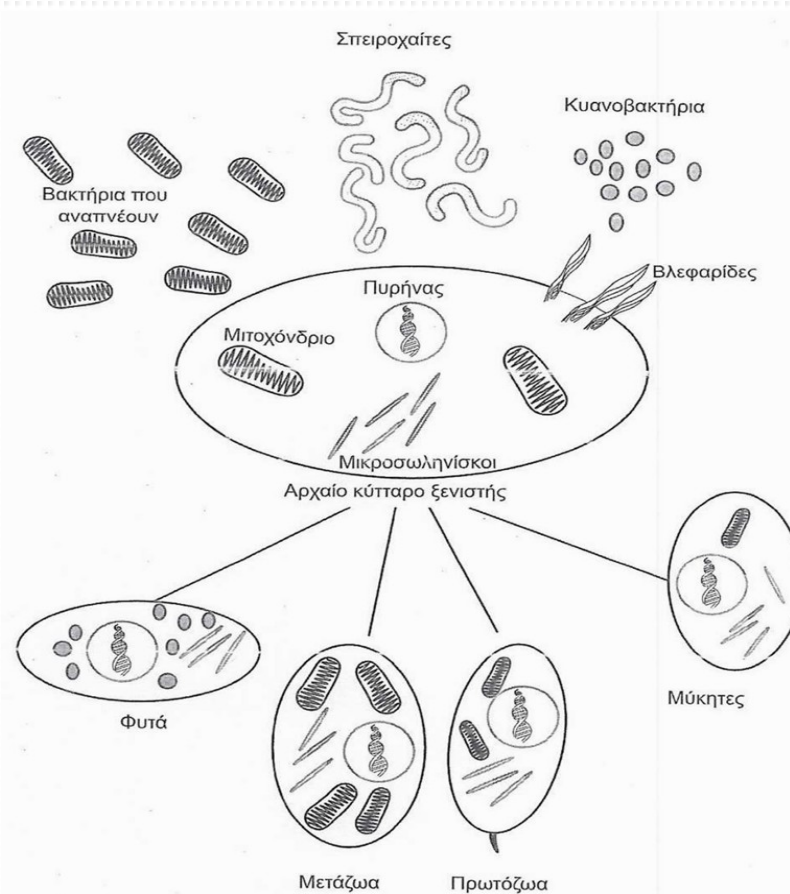
- Τα πρώτα βήματα της ζωής:

❖ Η συμβιωτική ένωση δύο ειδών μικροοργανισμών έγινε τελικά τόσο πλήρης, ώστε να έχουν απομείνει μόνο ελάχιστες ενδείξεις που να προδίδουν τη χωριστή καταγωγή του βακτηριακού κυττάρου.

❖ Το γεγονός ότι τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες διαθέτουν το δικό τους, προκαρυωτικής προέλευσης DNA, αποδεικνύει τη ξεχωριστή καταγωγή των οργανιδίων αυτών, ενισχύοντας τη θεωρία της συμβιωτικής σύζευξης.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Τα πρώτα βήματα της ζωής:



Προέλευση σύγχρονων ευκαρυωτικών οργανισμών με ενδοσυμβιωτική αυτοοργάνωση

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:
 - Οι οργανισμοί διακρίνονται σε:
 - ❖ Βακτήρια (Bacteria)
 - ❖ Αρχαία (Archaea)
 - ❖ Ευκαρυωτικά (Eukarya)
 - Όλες έχουν προκύψει από έναν κοινό πρόγονο
 - Οι μονοκύτταροι ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί είναι οι πρόγονοι των πολυκύτταρων οργανισμών
 - Τα προκαρυωτικά αντιπροσωπεύουν εξελικτικές γραμμές που δεν μπόρεσαν να εξελιχθούν πέραν του σταδίου των μονοκύτταρων

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:

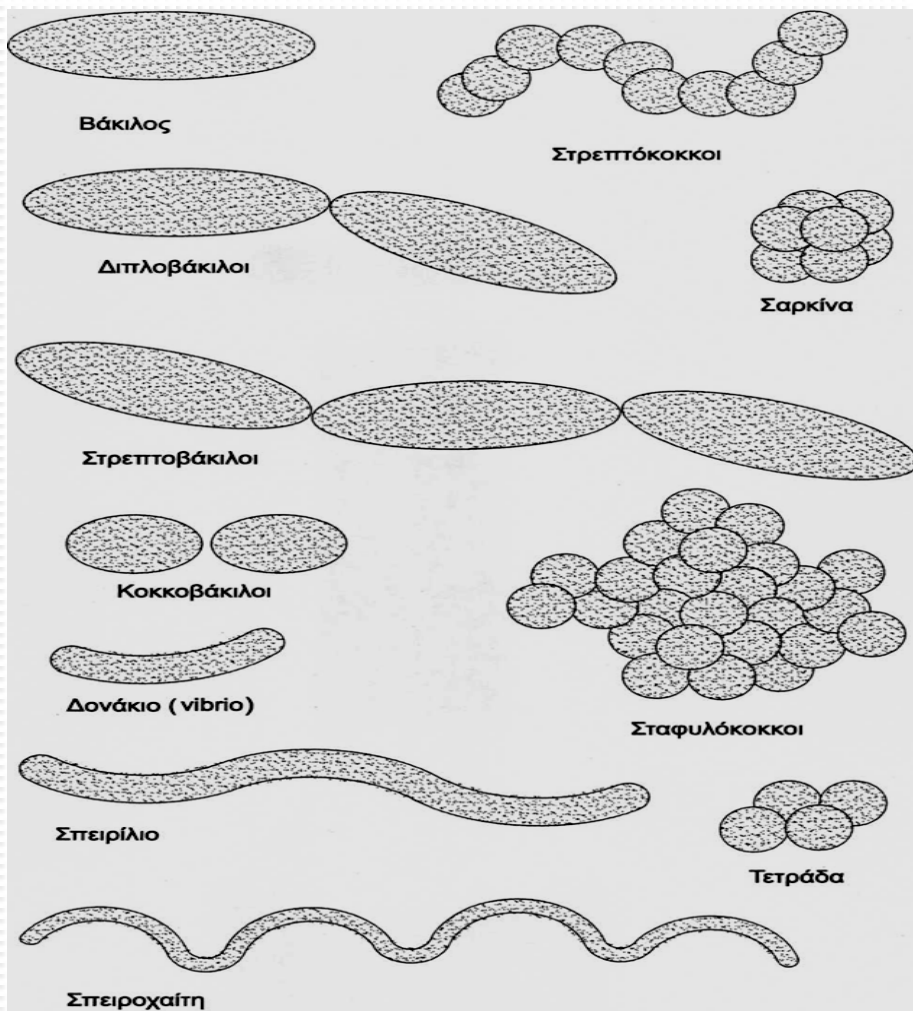
- Βακτήρια

- ❖ Είναι μονοκύτταροι μικροοργανισμοί με απλούστερη δομή σε σχέση με τα ευκαρυωτικά,
- ❖ Το γενετικό τους υλικό ως προκαρυωτικά δεν περιβάλλεται από ειδική μεμβράνη.
- ❖ Εμφανίζονται κυρίως ως ράβδοι, βάκιλοι και κόκκοι,
- ❖ Υπάρχουν και ελικοειδή (σπειρίλια και σπειροχαίτες)
- ❖ Αστεροειδή βακτήρια (*Nocardia* sp.)
- ❖ Βακτήρια σε σχήμα δονακίου (καμπυλωτή ράβδος)

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:

- Βακτήρια



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:

- Βακτήρια

- ❖ Χαρακτηριστικό των βακτηρίων είναι ότι διαθέτουν ένα κυτταρικό τοίχωμα που αποτελείται από πεπτιδογλυκάνη.
- ❖ Οι θρεπτικές απαιτήσεις τους καλύπτονται κυρίως ετερότροφα
- ❖ Η κινητικότητα καθίσταται δυνατή με τη χρήση μαστιγίων.
- ❖ Η πλειονότητα των βακτηρίων δεν έχει χαρακτηριστεί ή καλλιεργηθεί σε εργαστηριακό θρεπτικό μέσο ανάπτυξης.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:
 - Βακτήρια
 - ❖ Τα φύλα των βακτηρίων ξεπερνούν τα 50, συνυπολογίζοντας και τα μη καλλιεργήσιμα (candidate phyla).
 - Ενδεικτικά αναφέρονται:
 - ❖ *Acidobacteria*
 - ❖ *Actinobacteria*
 - ❖ *Firmicutes*
 - ❖ *Chloroflexi*
 - ❖ *Cyanobacteria*
 - ❖ *Proteobacteria*

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:
 - Αρχαία (Archaea)
 - ❖ Είναι προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί με μέγεθος παρόμοιο με εκείνο των βακτηρίων.
 - ❖ Το σχήμα τους είναι παρόμοιο με των Βακτηρίων
 - ❖ Στη δομή του κυτταρικού τους τοιχώματος, ομοιάζουν με τα Gram (+) βακτήρια
 - ❖ Αρχικά περιγράφηκαν με το όνομα αρχαιοΒακτήρια, αφού θεωρούνταν ως μία κατηγορία βακτηρίων.
 - ❖ Θεωρήθηκαν ότι ήταν οι πρώτοι οργανισμοί που εμφανίστηκαν στη γη

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:
 - Αρχαία (Archaea)
 - Ζουν σε ακραία περιβάλλοντα, όπως είναι οι αλμυρές και αλκαλικές λίμνες, η Νεκρά Θάλασσα, οι θερμές πηγές και τα ηφαιστιογενή εδάφη
 - Διαπιστώθηκε η παρουσία τους σε εδάφη, στους ωκεανούς και στη μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου
 - Εμφανίζουν ασυνήθιστα βιοχημικά χαρακτηριστικά, όπως οι μεθανιογόνοι μικροοργανισμοί που παράγουν CH_4 ως προϊόν του μεταβολισμού τους
 - Διακρίνονται σε εξαιρετικά αλόφιλα, αλοβασεόφιλα, υπερθερμόφιλα, θερμοξεόφιλα και μεθανιογόνα

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:
 - Αρχαία (Archaea)
 - ❖ Τα *Euryarchaeota* και *Crenarchaeota* αποτελούν τα κυριότερα φύλα των αρχαίων
 - ❖ Το φύλο *Euryarchaeota* περιλαμβάνει αλόφιλα, αλοβασόφιλα και μεθανιογόνα στελέχη
 - ❖ Το φύλο *Crenarchaeota* αποτελείται από υπερθερμόφιλα και θερμοξεόφιλα μέλη
 - ❖ Έχουν επίσης προταθεί τα φύλα *Korarchaeota*, *Nanoarchaeota* και *Thaumarchaeota*

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:
 - Ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί
 - Σε αυτούς ανήκουν τα φύκη, οι μύκητες και τα πρωτόζωα
 - Το κυτταρικό τοίχωμα πολλών φυκών, όπως και φυτών, αποτελείται από κυτταρίνη.
 - Αν και παλιότερα τα κυανοβακτήρια περιλαμβάνονταν στα φύκη, τα τελευταία χρόνια, με τη διερεύνηση της φυλογενετικής τους θέσης, εξετάζονται ως φύλο των Βακτηρίων.
 - Τα φύκη είναι μονοκύτταροι ή πολυκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί που δεν έχουν ρίζες, βλαστούς ή φύλλα, αλλά που μπορούν να φωτοσυνθέτουν, παράγοντας οξυγόνο

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:

- Ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί

- ❖ Οι μύκητες δεν έχουν φωτοσυνθετική ικανότητα και καλύπτουν τις ενεργειακές τους απαιτήσεις προσλαμβάνοντας οργανικές ενώσεις από το περιβάλλον (υπόστρωμα) ανάπτυξης τους.
- ❖ Παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση της οργανικής ύλης, επηρεάζοντας σε μεγάλο βαθμό τους βιογεωχημικούς κύκλους των θρεπτικών συστατικών.
- ❖ Είναι κυρίως σαπρότροφοι, αν και πολλά είδη είναι συμβιωτικά

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:
 - Ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί
 - Ενδεικτικά αναφέρονται ορισμένα φύλα μυκήτων:
 - ❖ Ascomycota
 - ❖ Basidiomycota
 - ❖ Blastocladiomycota
 - ❖ Chytridiomycota
 - ❖ Glomeromycota
 - ❖ Neocallimastigomycota

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

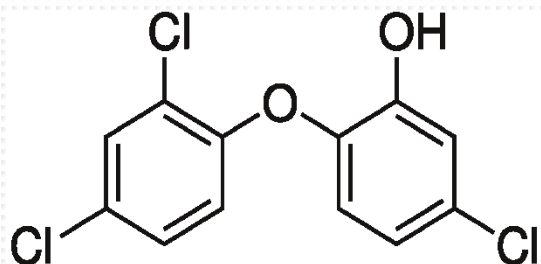
- Η ποικιλομορφία των μικροοργανισμών:
- Ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί
 - ❖ Τα πρωτόζωα είναι μονοκύτταροι, ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί, που λαμβάνουν κυρίως την τροφή τους με πρόσληψη άλλων μικροοργανισμών.
 - ❖ Αποτελούν τους κύριους θηρευτές βακτηρίων σε συστήματα βιολογικής επεξεργασίας υγρών αποβλήτων.
 - ❖ Αρκετά εξ' αυτών είναι σε θέση να κινούνται χρησιμοποιώντας προεκτάσεις του κυτταροπλάσματος (ψευδόποδες) ή μαστίγια ή πολυπληθείς βλεφαρίδες.
 - ❖ Ζουν είτε ως μονάδες είτε ως παράσιτα που απορροφούν ή προσλαμβάνουν οργανικά συστατικά από το περιβάλλον.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

**Βιολογική επεξεργασία, μηχανισμός αποδόμησης και δομή
μικροβιακής κοινότητας σε βιολογικό σύστημα ανοδικής
ροής που επεξεργάστηκε υγρό απόβλητο με υψηλή
συγκέντρωση τρικλοσάνης**

Ανάλυση άρθρου

- Η τρικλοσάνη (Triclosan) με μοριακό τύπο $C_{12}H_7Cl_3O_2$ - 2,4,4 τριχλωροϋδροξυδιφαινυλαιθέρας) είναι μια σχετικά μικρή χημική ένωση, που ανήκει στην κατηγορία των χλωροφαινολών
- Χρησιμοποιείται ευρέως για πάνω από 50 χρόνια σε πολλά προϊόντα προσωπικής φροντίδας, όπως οδοντόκρεμες, γενικά καθαριστικά και υγρά καθαρισμού πιάτων, σαπούνια, αποσμητικά και αντιμικροβιακές κρέμες.

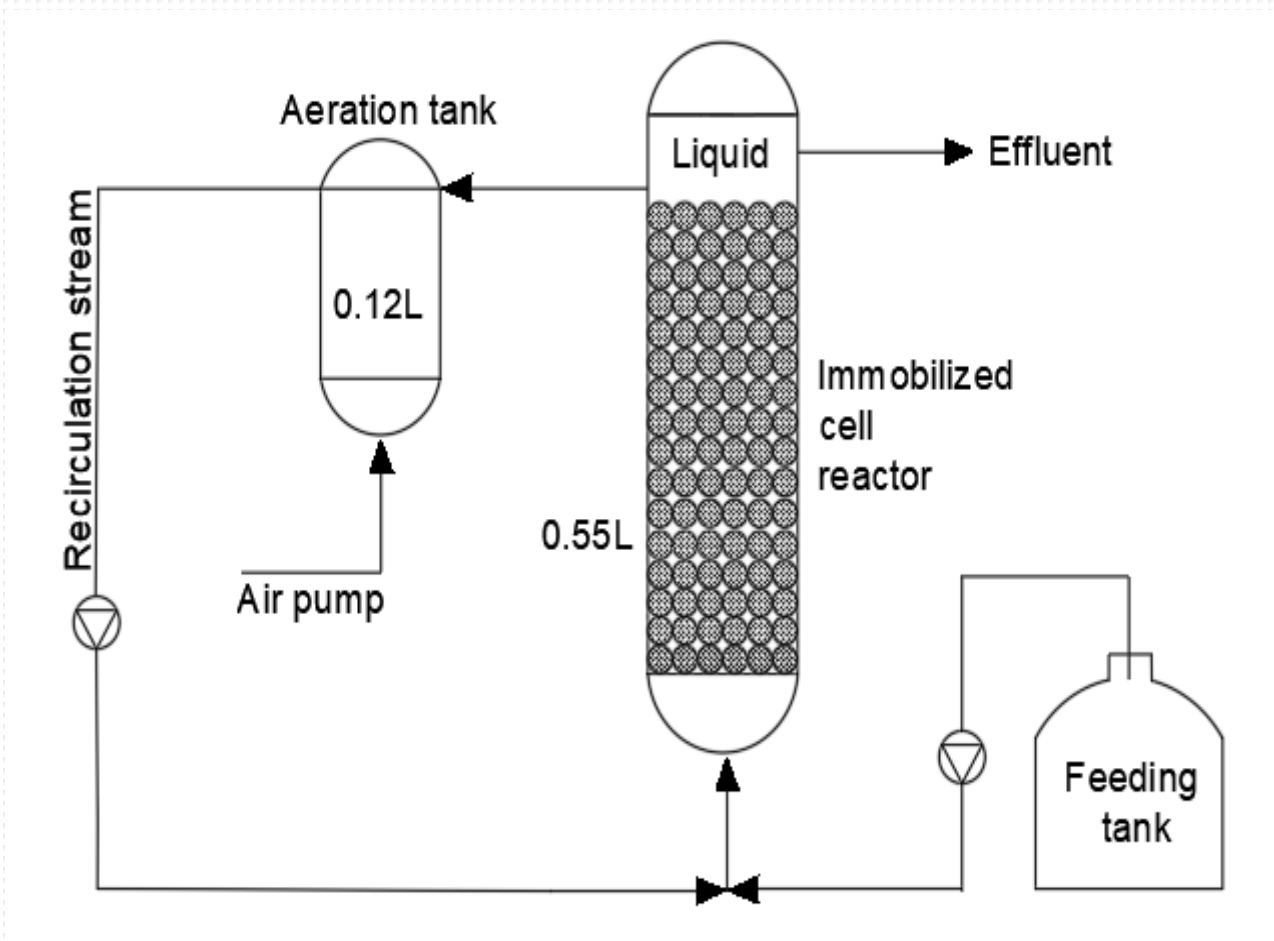


Ανάλυση άρθρου

- Σύστημα ανοδικής ροής καθηλωμένης βιομάζας λειτουργικού όγκου 550 mL (εργαστηριακής κλίμακας)
- Ο βιοαντιδραστήρας πληρώθηκε με πορώδες υλικό (porous beads) όγκου 170 ml
- Το βιολογικό σύστημα λειτούργησε υπό αμιγώς αερόβιες συνθήκες.
- Παροχή αέρα από αντλία και ανακυκλοφορία οξυγονωμένου αποβλήτου στο μικτό υγρό (30 L/h)
- Η συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου ήταν διαρκώς μεγαλύτερη από 2,5 mg/L.
- Χρησιμοποιήθηκε προσαρμοσμένη ενεργός ιλύς 50 ml
- HRT 3,5 days.

Triclosan - Τρικλοσάνη

Σχηματική αναπαράσταση βιοαντιδραστήρα



Ανάλυση άρθρου

- Το υγρό απόβλητο περιείχε 400 mg/L τρικλοσάνης ως μοναδική πηγή άνθρακα
 - Ανόργανα συστατικά και ιχνοστοιχεία
- | | |
|--|--|
| 10 mM NH_4Cl , | 1 μM Na_2SeO_3 |
| 0.2 mM $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, | 3 μM $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ |
| 1 mM Na_2HPO_4 , | 2 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ |
| 5 mM KCl , | 1 μM H_3BO_3 |
| 2 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, | 3 μM $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ |
| 2 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, | 3 μM $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ |
- Καθώς και μικρή ποσότητα εκχυλίσματος ζύμης (yeast extract)

Ανάλυση άρθρου

- Φυσικοχημικές αναλύσεις

- ❖ BOD_5

- ❖ COD

- ❖ EC

- ❖ pH

- ❖ TKN

- ❖ NH_4^+-N

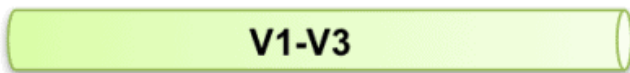
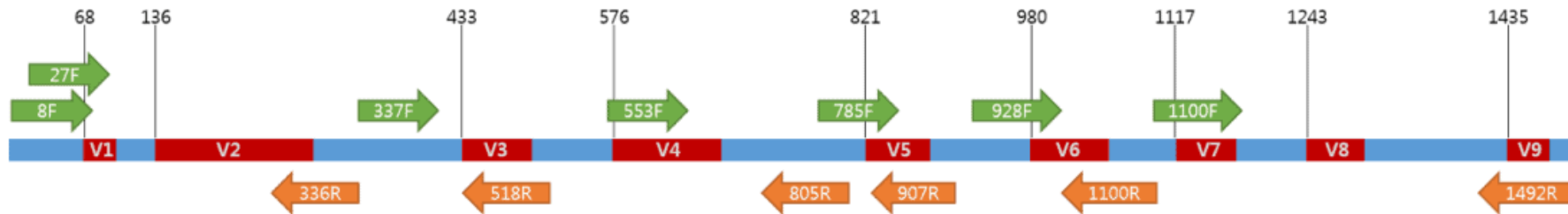
- ❖ $NO_3^- -N$ (στήλη καδμίου)

«Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater» (Clesceri et al. 1998)

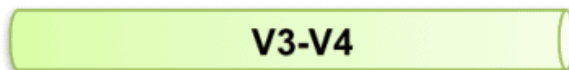
Ανάλυση άρθρου

- Εξαγωγή γενωμικού DNA (genomic DNA)
 - ❖ Χρήση εκκινητών 27F (5' -AGR GTT TGA TCM TGG CTC AG-3') & 519R (5' -GTN TTA CNG CGG CKG CTG-3')
 - ❖ Ενίσχυση της V1-V3 περιοχής του γονιδίου 16S rRNA
 - ❖ Πραγματοποίηση της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction) σε θερμικό κυκλοποιητή.
 - ❖ Αλληλούχιση υψηλής απόδοσης illumina sequencing

Ανάλυση άρθρου



~510 bp for Roche 454



~428 bp for MiSeq PE

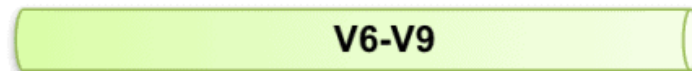


~548 bp for Roche 454



~252 bp for HiSeq

~562 bp for Roche 454



Pacific Biosciences

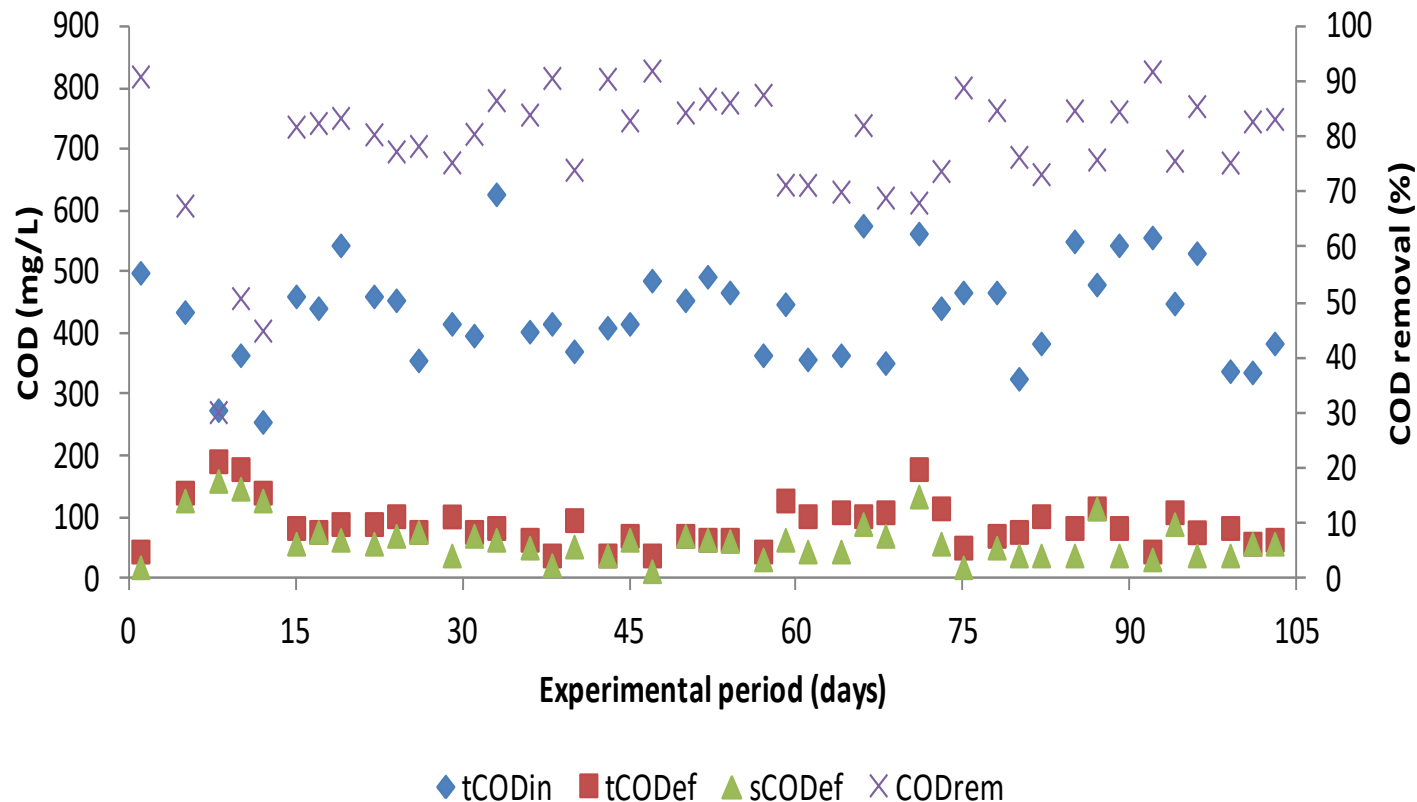
Triclosan - Τρικλοσάνη

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά υγρού αποβλήτου και εκροής του βιολογικού συστήματος

Φυσικοχημικές παράμετροι	Είσοδος	Εκροή
NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	51.14 ± 5.30	35.24 ± 4.03
TKN (mg/L)	54.88 ± 6.17	36.92 ± 4.93
PO ₄ ³⁻ -P (mg/L)	13.16 ± 0.81	9.48 ± 1.55
NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	0.02 ± 0.01	0.43 ± 0.09
NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	0.01 ± 0.01	0.08 ± 0.03
BOD (mg/L)	0.00 ± 0.00	14.17 ± 5.23

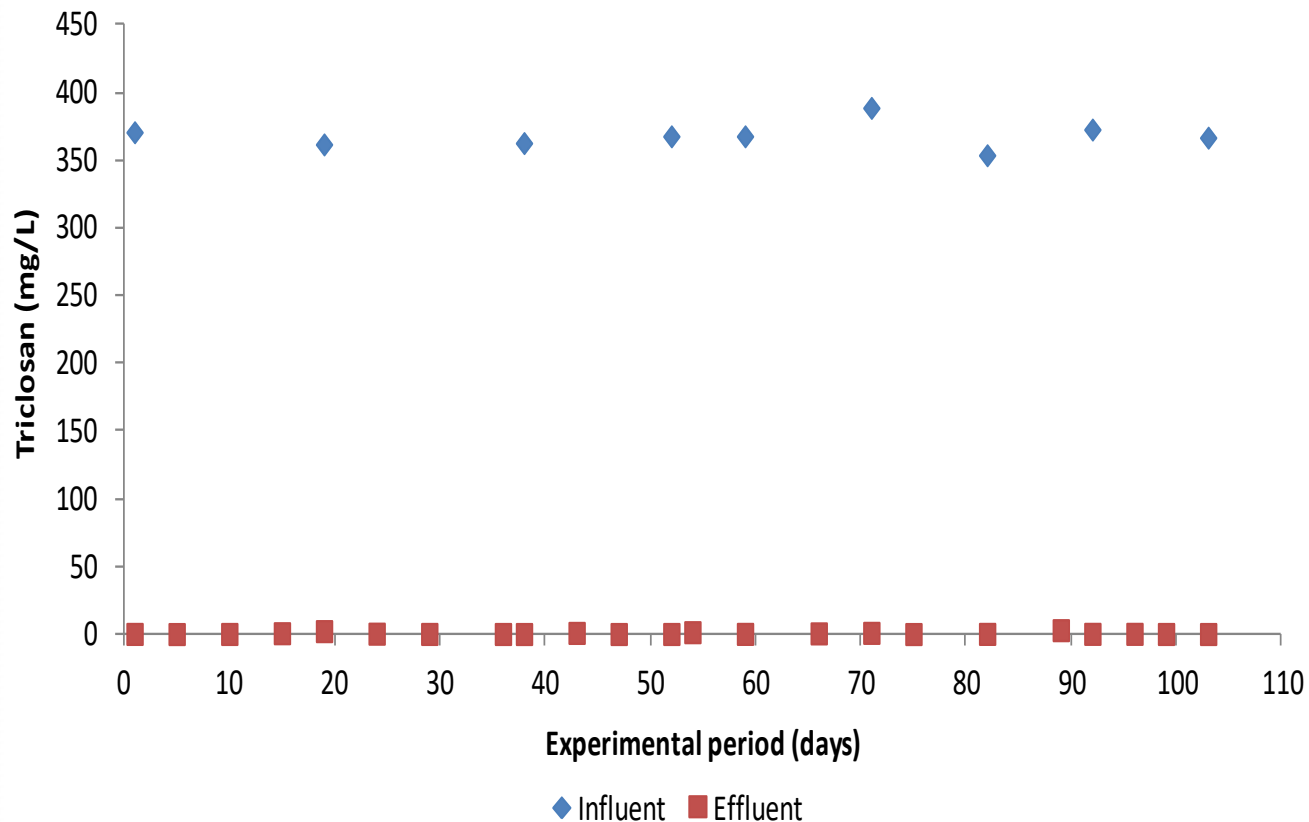
Triclosan - Τρικλοσάνη

Απόδοση του βιολογικού συστήματος κατά την επεξεργασία αποβλήτου με υψηλή συγκέντρωση τρικλοσάνης



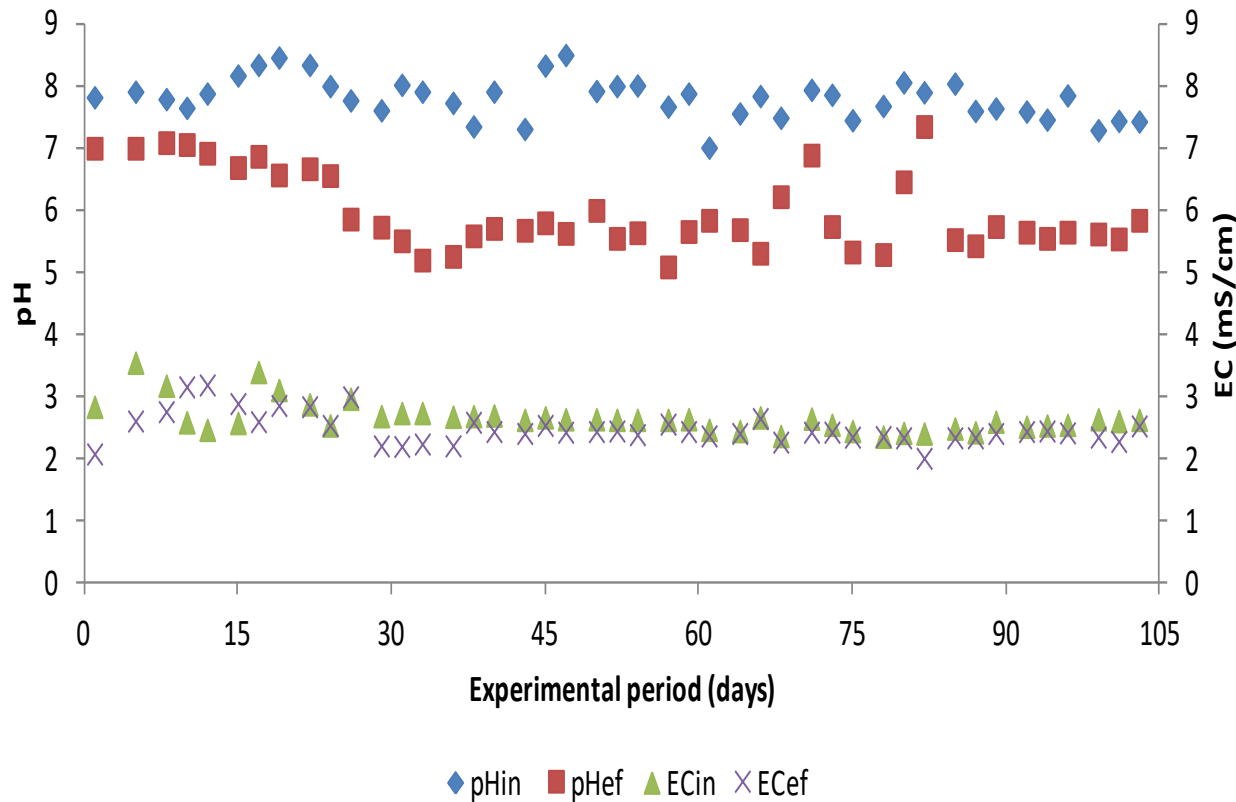
Triclosan - Τρικλοσάνη

Απόδοση του βιολογικού συστήματος κατά την επεξεργασία αποβλήτου με υψηλή συγκέντρωση τρικλοσάνης



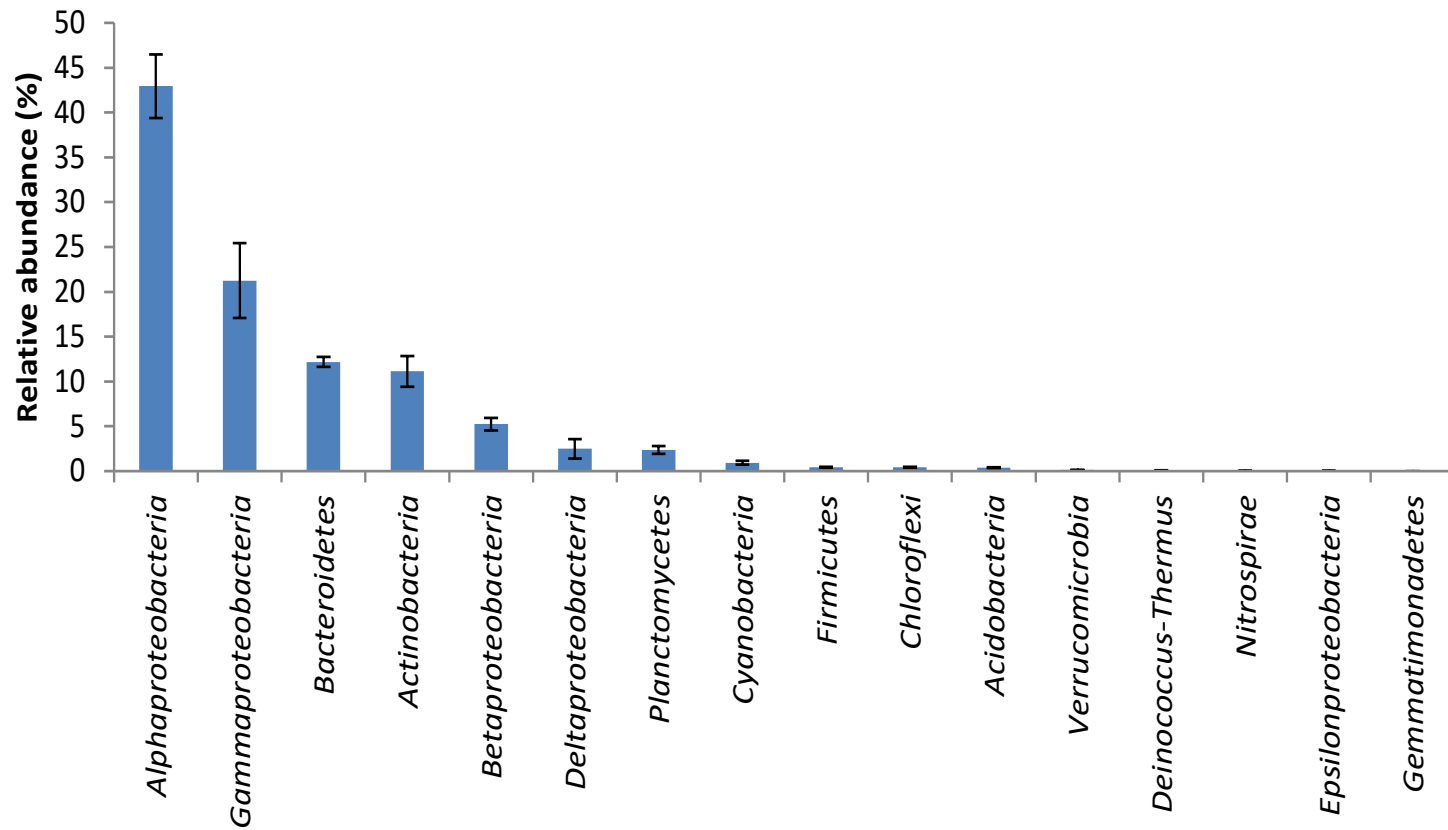
Triclosan - Τρικλοσάνη

Απόδοση του βιολογικού συστήματος κατά την επεξεργασία αποβλήτου με υψηλή συγκέντρωση τρικλοσάνης



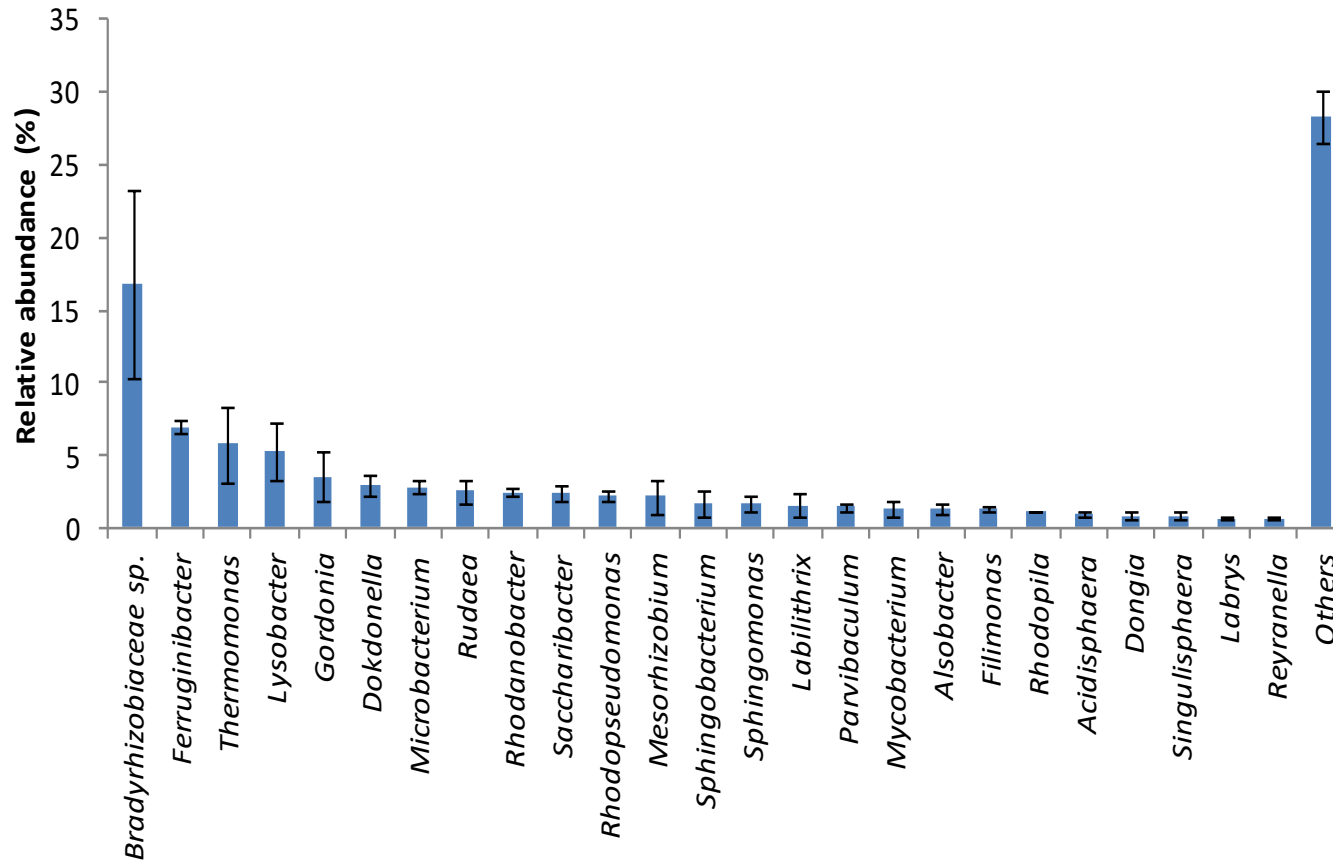
Triclosan - Τρικλοσάνη

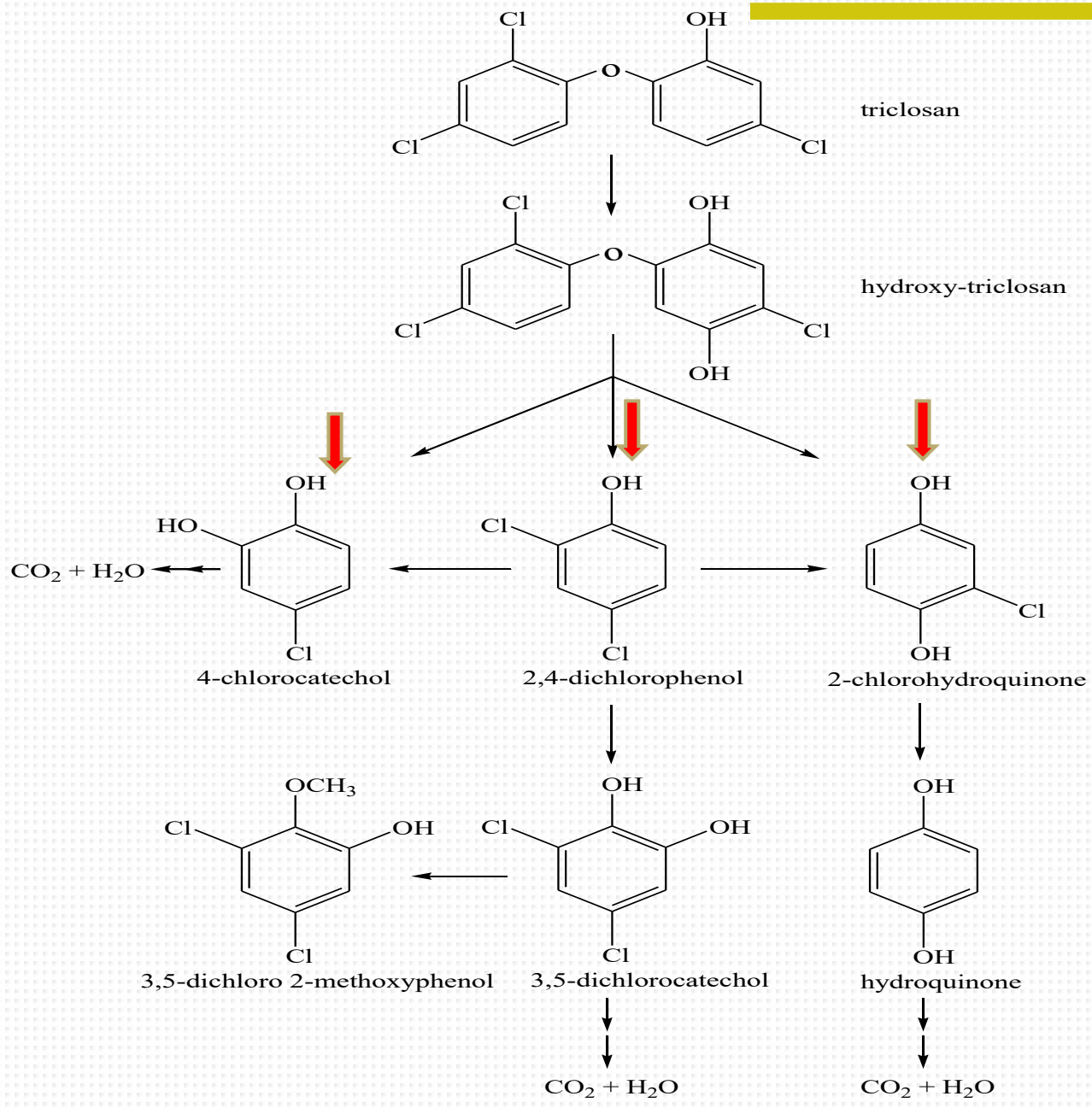
Ανάλυση σχετικής αφθονίας πληθυσμού βακτηρίων που αναπτύχθηκε στο σύστημα ακινητοποιημένης βιομάζας

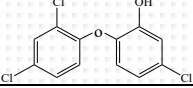
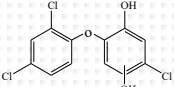
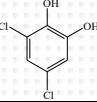
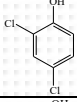
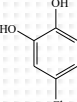
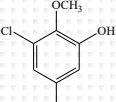
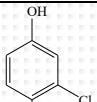
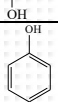


Triclosan - Τρικλοσάνη

Ανάλυση σχετικής αφθονίας πληθυσμού βακτηρίων που αναπτύχθηκε στο σύστημα ακινητοποιημένης βιομάζας





Compound	Formula	Area	Retention time	Precursor Mass	Found at Mass	Mass Error (ppm)	Isotope Ratio Difference	Formula Finder Results
triclosan		2.618e5	8.376	286.944	286.9439	0.1	4.4	C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂
hydroxy-triclosan		8.617e3	6.176	302.939	302.9394	2.1	17.4	C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₃
3,5-dichlorocatechol		4.139e5	4.120	176.952	176.9524	4.7	5.7	C ₆ H ₄ Cl ₂ O ₂
2,4-dichlorophenol		4.876e4	3.950	160.957	160.9575	5.2	5.2	C ₆ H ₄ Cl ₂ O
4-chlorocatechol		3.828e3	3.875	142.991	142.9912	4.6	4.7	C ₆ H ₅ ClO ₂
3,5-dichloro-2-methoxyphenol		7.060e4	3.787	190.967	190.9678	3.2	2.8	C ₇ H ₆ Cl ₂ O ₂
2-chlorohydroquinone		4.106e3	3.125	142.991	142.9913	5.6	3.5	C ₆ H ₅ ClO ₂
hydroquinone		5.088e3	2.687	109.030	109.0299	3.3	6.6	C ₆ H ₆ O ₂