



Universiteit Antwerpen
Faculteit Toegepaste
Ingenieurswetenschappen

Universiteit Antwerpen

Faculteit Toegepaste
Ingenieurswetenschappen

Ontwerp en ontwikkeling van een modulair elektronisch pipettesysteem

Sybe De Backer

Promotor: Prof. Dr. Ir. Amélie Chevalier

Mentor: Dr. Ing. Jona Gladines

Een eindwerk ingediend bij
Universiteit Antwerpen voor het diploma
Bachelor in de Industriële Wetenschappen: Elektromechanica

Academiejaar 2024–2025

Inhoudsopgave

| | |
|--|------------|
| Lijst van figuren | iii |
| Lijst van tabellen | iv |
| 1 Inleiding | 1 |
| 1.1 laboratorium-automatisatie | 1 |
| 1.2 Breder kader | 1 |
| 1.2.1 Reproduceerbaarheidscrisis | 1 |
| 1.2.2 Robotic labs | 2 |
| 1.3 Robotic labs als oplossing voor reproduceerbaarheidscrisis | 2 |
| 1.4 Pipetrobot als onderdeel van Robotic lab | 2 |
| 1.5 Probleemstelling | 2 |
| 2 Achtergrond | 3 |
| 2.1 Displacement pipetten | 3 |
| 2.1.1 Air-Displacement | 3 |
| 2.1.2 Positive Displacement | 3 |
| 2.2 Pipette types | 3 |
| 2.2.1 Mondpipetten | 3 |
| 2.2.2 Analoge pipetten | 4 |
| 2.2.3 Elektronische pipetten | 5 |
| 2.3 Bestaande liquid handling robots | 5 |
| 2.3.1 Commerciële oplossingen (closed source) | 5 |
| 2.3.2 Open source oplossingen | 6 |
| 3 Methode | 7 |
| 3.1 Conceptueel ontwerp | 7 |
| 3.1.1 Literatuurstudie | 7 |
| 3.2 Hardware ontwerp | 7 |
| 3.2.1 Muurelementen | 7 |
| 3.2.2 Bodemplaat en geleidestaven | 8 |
| 3.2.3 Tussenplaat en motorplaat | 9 |
| 3.2.4 Loodschroef, motor en askoppeling | 10 |
| 3.2.5 Geleideslede | 10 |
| 3.2.6 Zuiger | 11 |
| 3.3 Elektronica ontwerp | 11 |
| 3.3.1 Componentenlijst | 11 |
| 3.3.2 Motor | 11 |
| 3.3.3 Driver | 11 |
| 3.3.4 Microcontroller | 11 |
| 3.3.5 Aansluiting | 12 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.4 | Software ontwerp | 13 |
| 3.4.1 | Belangrijke functionaliteit in de software | 13 |
| 3.4.2 | Opbouw van de software | 13 |
| 3.5 | Nauwkeurighedsanalyse | 14 |
| 3.6 | Nauwkeurighedsanalyse | 14 |
| 4 | Resultaten | 15 |
| 5 | Conclusies | 16 |
| | Bibliografie | 17 |
| | Appendices | 19 |
| A | | 19 |

Lijst van figuren

| | | |
|------|--|----|
| 2.1 | US4744955. | 4 |
| 2.2 | US5320810. | 4 |
| 2.3 | OT-2. | 6 |
| 2.4 | Andrew+. | 6 |
| 2.5 | Kopyl et al. | 6 |
| 2.6 | Sidekick | 6 |
| 3.1 | Demonstratie van de geleidestaven. | 8 |
| 3.2 | Het verdubbelde muurelement. | 8 |
| 3.3 | Montage van verkeerslichten. | 9 |
| 3.4 | Tegengedraaide moeren | 9 |
| 3.5 | Bodemplaat. | 9 |
| 3.6 | Klem zuiger | 9 |
| 3.7 | Tussenplaat. | 9 |
| 3.8 | Motorplaat. | 9 |
| 3.9 | De geleideslede tussen de muren. | 10 |
| 3.10 | De geleideslede. Inclusief de samengestelde zuigerklem. | 10 |
| 3.11 | Schema van de aansluiting. | 12 |
| 3.12 | Flowchart communicatie (met als voorbeeld aspireer 500 μl aan 20 $\mu l/s$). | 13 |

Lijst van tabellen

| | | |
|-----|---|----|
| 3.1 | Componentenlijst. | 11 |
| 4.1 | Resultaten van nauwkeurigheidstesten per kanaal (n=10). | 15 |

Hoofdstuk 1

Inleiding

1.1 laboratorium-automatisatie

In de afgelopen jaren hebben robotische processen de manier waarop we experimenten en de bijhorende labotaken uitvoeren veranderd. Geautomatiseerde systemen hebben, vooral in biomedisch en moleculair onderzoek, een enorm potentieel aangetoond voor het verhogen van de reproduceerbaarheid van experimenten, het stroomlijnen van experimentele methoden en het verminderen van de impact van menselijke fouten.[1]

Deze thesis zal zich richten op de ontwikkeling van een robotisch pipetteersysteem dat is afgestemd op de behoeften van de onderzoeksgroep 'Translational Neurosciences' aan de Universiteit Antwerpen. Het doel van dit onderzoek is om de robuustheid en reproduceerbaarheid van hun experimenten te verbeteren. Dit gebeurt in het kader van een bredere automatisering van hun laboratorium. Door een van de kernuitdagingen in experimentele reproduceerbaarheid, namelijk het maken van technische fouten bij repetief werk, aan te pakken probeert dit werk bij te dragen aan bredere inspanningen om betrouwbare onderzoeksinstrumenten te creëren.

1.2 Breder kader

1.2.1 Reproduceerbaarheidscrisis

Reproduceerbaarheid is een hoeksteen van wetenschappelijk onderzoek en zorgt ervoor dat resultaten onafhankelijk kunnen worden geverifieerd. Studies hebben echter gewezen op een groeiende reproduceerbaarheidscrisis in onder meer biomedisch onderzoek, veroorzaakt door inconsistenties in handmatige procedures, subjectieve beoordelingen en omgevingsvariabiliteit. [2] De reproduceerbaarheidscrisis verwijst naar de moeilijkheid om wetenschappelijke resultaten consistent te repliceren, een probleem dat zowel technische als menselijke oorzaken kent.

Vaak wordt er gekeken naar de sociale en economische aspecten van wetenschap.[3] De druk om origineel onderzoek te publiceren is zo groot dat dit een druk uitoefent op de bestaande systemen van peer-evaluatie en soms worden resultaten herwerkt tot ze een significante ontdekking vertonen met methodes als "p-hacking".[2, 4] Er zijn echter ook technische beperkingen. Zo worden door menselijke fouten handelingen niet altijd uitgevoerd zoals ze in het experiment beschreven staan.

Dit gebrek aan succesvolle reproductie heeft een significante impact op bijvoorbeeld kankeronderzoek en andere gerelateerde onderzoeks disciplines. [5]

1.2.2 Robotic labs

Onderzoekers kijken onder andere naar robotische laboratoria als oplossing. Dit zijn laboratoria waarbij een deel van, of alle, taken worden uitgevoerd door robots. Deze dragen als voordeel met zich mee dat repetitieve taken niet langer door mensen moeten uitgevoerd worden. Deze kunnen dan aan lage kost parallel uitgevoerd worden. Dit heeft in bijvoorbeeld genoomonderzoek al voor een grote versnelling gezorgd doorheen de laatste twee decennia. Dit komt doordat laboratoria sneller hun stalen kunnen analyseren. Onderzoek toont aan dat deze versnelling grotendeels door geautomatiseerde laboratoria wordt gedreven en dat niet geautomatiseerde laboratoria zelfs achterlopen.[4]

1.3 Robotic labs als oplossing voor reproduceerbaarheidscrisis

Door het automatiseren van enkele of alle taken wordt de mogelijkheid tot menselijke fout verminderd. Robots kunnen ervoor zorgen dat repetitieve taken telkens op dezelfde manier worden uitgevoerd. Bij het manueel pipetteren kunnen deze taken door vermoeidheid en fysieke klachten voor variatie kunnen zorgen. [6] Doordat liquid handling robots programmeerbaar zijn en deterministisch werken is het mogelijk om de exacte handelingen te delen zonder het risico dat stappen worden weggelaten.

1.4 Pipetrobot als onderdeel van Robotic lab

Geautomatiseerde laboratoria hebben echter nog een belangrijk minpunt. De investeringskosten zijn groot en het automatiseren van een volledig laboratorium kan lang duren. Voor veel kleinere laboratoria is volledig automatisatie dan ook niet altijd interessant. Als compromis stellen onderzoekers semi-automatisatie voor. Hierbij word gekeken naar welke stappen de grootste impact hebben en concludeert men dat de belangrijkste winsten voortkomen uit het automatiseren van de meest repetitieve en tijdrovende taken. Hierbij werd hoofdzakelijk pipetteren als kandidaat gezien.Christler et al. [7], Slate et al. [8]

1.5 Probleemstelling

Als einddoel zal er getracht worden om een systeem te ontwikkelen dat (met een API) zal toelaten om programmatisch pipet-handelingen uit te voeren. Het systeem zal zo ontworpen worden dat het geïntegreerd kan worden met bestaande robots, als end effector. Door deze zo kosten-efficiënt mogelijk te ontwerpen is het de bedoeling dat deze robot toegankelijk zal zijn voor laboratoria die de hoge investeringskosten van deze automatiseringssystemen willen vermijden. De thesis zal zich specifiek richten op het beantwoorden van volgende onderzoeksvraag:

Welke ontwerp- en implementatievereisten zijn nodig voor de ontwikkeling van een programmeerbare, kosten-efficiënte pipetrobot die reproduceerbaarheid in laboratoria verbetert?

Door een aanpasbaar en modulair ontwerp aan te bieden, kunnen laboratoria kiezen voor een oplossing die voldoet aan hun specifieke behoeften zonder overbodige kosten. Dit betekent ook dat er reeds bestaand software en hardware gebruikt kan worden om enerzijds de initiële kosten te drukken, en eveneens flexibiliteit en uitbreidbaarheid te bieden. Dit biedt een aantrekkelijk alternatief voor de dure commerciële systemen die vaak voorgeconfigureerd zijn en weinig ruimte laten voor aanpassing.

Hoofdstuk 2

Achtergrond

2.1 Displacement pipetten

2.1.1 Air-Displacement

Bij Air-Displacement pipetten wordt er geen direct contact gemaakt tussen de vloeistof en de zuiger. Er is een laag lucht die tussen de vloeistof en de zuiger zit. Dit zorgt ervoor dat er geen contaminatie van de vloeistof kan optreden. Dit is een belangrijk voordeel. Er wordt echter wel aan nauwkeurigheid ingeboet. Dit komt door de aanwezigheid van zowel luchtdrukverschijnselen als oppervlaktespanningen in de vloeistof. Deze fouten kunnen deels verholpen worden met correctieberekeningen zoals in [9] of lookup-tabellen zoals in [10]. Dit is echter niet altijd mogelijk. Bij het pipetteren van zeer kleine volumes kan de invloed van de oppervlaktespanning zo groot zijn dat er geen correctie meer mogelijk is. Dit komt doordat de oppervlaktespanning een grotere invloed heeft op de vloeistof dan de luchtdruk. Dit kan opgelost worden door gebruik te maken van een andere techniek, namelijk positive displacement zoals beschreven in [9].

Theoretische achtergrond

In [9] staat beschreven hoe een air-displacement pipet werkt via de ideale gaswet. Er wordt een omgeving van lagere druk gecreëerd door het veranderen van het volume van de pipet. Dit volume wordt ingenomen door de vloeistof waar de pipetpunt zich in bevindt. Bij een mondpipet wordt deze negatieve druk gecreëerd door de longen van de operator. Bij de mechanische pipet wordt deze via de peer gecreëerd door deze initieel in te drukken en daarna terug te laten opvullen.

2.1.2 Positive Displacement

Positive displacement pipetten zijn een alternatieve oplossing waarbij er wel contact is tussen de vloeistof en de zuiger. Er treden dus geen oppervlaktespanningen op aangezien de vloeistof overal contact maakt met de zuiger. Dit heeft voordelen op vlak van precisie. Vooral bij vloeistoffen die sterk verschillen van water. Zo worden positive displacement pipetten in [11] voorgesteld als methode om cel-cultuur-media of BSA te pipetteren. Ze dragen echter een groter risico op contaminatie, al kan dit wel verholpen worden.

2.2 Pipette types

2.2.1 Mondpipetten

Mondpipetten waren doorheen de 19e en in het begin van de 20e eeuw de standaard voor het pipetteren. De operator zorgde hier zelf voor een negatieve druk door in te ademen. Dit was enkel

mogelijk als air-displacement pipet. In [12] wordt bijvoorbeeld een ontwerp voor een mondpipet voorgesteld om steriliteitstesten mee uit te voeren. In 1950 werd door A. J. Swallow in [13] de eerste mechanische pipet voorgesteld voor het pipetteren van radioactieve stoffen. Hierdoor was er geen contact mogelijk tussen de mond en de te pipetteren vloeistof. Dit helpt ook bij het vermijden van besmetting van labopersoneel zoals beschreven in [14].

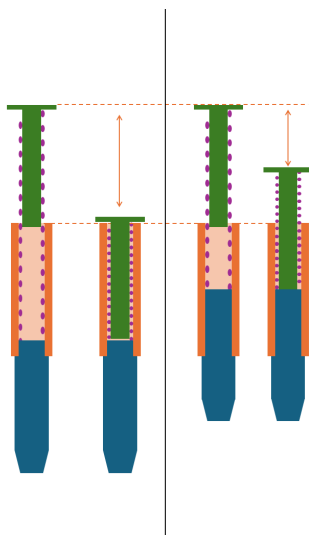
2.2.2 Analoge pipetten

Analoge pipetten, zoals beschreven in de patenten [15] en [16], werken volgens het principe van een zuigermechanisme. Het instellen van het gewenste volume gebeurt door het aanpassen van de slag van de zuiger zoals te zien in Figuur 2.1 en Figuur 2.2.

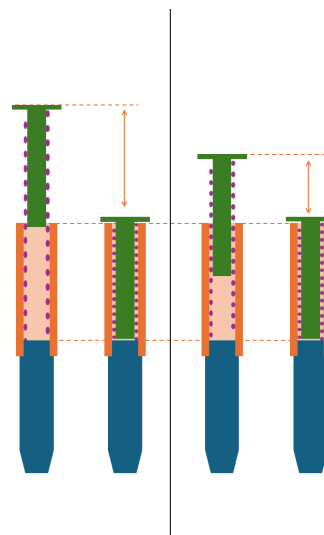
In het geval van [16] gebeurt dit via een instelwiel. Door het draaien aan dit wiel wordt een loodschroef axiaal verplaatst, wat de beginpositie van de zuigerstang aanpast. Bij een kleiner ingesteld volume zal de zuigerstang in rustpositie korter lijken. De zuigerstang kan vervolgens worden ingedrukt tot aan een vaste stopmoer, die steeds op dezelfde positie blijft. Omdat de beginpositie van de zuigerstang verschuift, verandert de totale slag van de zuiger, en daarmee het op te nemen volume.

Het principe in [15] is vergelijkbaar, maar eenvoudiger uitgevoerd. Hier wordt het volume ingesteld door het onderste deel van de pipet verder in te schroeven, waardoor de eindpositie van de zuiger wordt bepaald. Op die manier wordt ook de zuigerslag en dus het volume aangepast.

De analoge pipetten beschreven in deze patenten gebruiken air-displacement maar deze pipetten kunnen ook met positive displacement gevonden worden. In geval van [16] gebeurt dit met een zuiger (44) die relatief verder van de pipetteer-punt (28) staat dan bij [15]. [15] is eenvoudiger uitgevoerd dan [16]. Er zijn minder dichtingen en er is geen display om het gewenste volume van af te lezen. Dit maakt echter ook dat [15] meer problemen zal hebben op vlak van lekkage en dus precisie.



Figuur 2.1: US4744955.
Gebaseerd op [15]



Figuur 2.2: US5320810.
Gebaseerd op [16]

2.2.3 Elektronische pipetten

Elektronische Pipetten bouwen verder op dezelfde principes als analoge pipetten. Bij elektronische pipetten wordt de actuatie van de zuiger motorisch aangedreven. Zo wordt dit in [10] met een stappermotor gedaan. Dit laat toe om de zuiger met een hoge precisie te verplaatsen. Voor deze methode is de precisie van de motor cruciaal aangezien dit de maximale precisie van de pipet zal bepalen. In het eerder genoemde patent wordt hiervoor gebruik gemaakt van microstepping. Microstepping is een belangrijk voordeel van stappermotoren en laat toe om met een precisie van enkele tientallen nl te pipetteren.

De rotationele beweging van de motor moet omgezet worden tot een axiale beweging in de zuiger. In het geval van [10] wordt dit met een loodschroef gedaan. Om te bepalen hoeveel stappen er voor een bepaald volume nodig zijn wordt er in het patent gebruik gemaakt van een lookup-tabel met empirisch bepaalde waarden. Ook is er een calibratietabel die deze waarden verfijnt naar de toepassing. Deze houdt mede rekening met oppervlaktespanningen en atmosferische invloeden.

In het geval van een stappermotor kan er ook een vergelijking afgeleid worden op basis van de lood van de schroef, de doorsnede van de zuiger en het aantal stappen per rotatie. Dit gaat echter uit van ideale omstandigheden zonder gemiste stappen en is dus niet realistisch. Gemiste stappen zijn dan ook een beperkende factor voor stappermotoren aangezien dit leidt tot fouten in het gepipeteerde volume. [17] maakt gebruik van een sensor om verplaatsing van de zuiger te bepalen. Dit maakt een closed-loop systeem met mogelijkheid tot regeling.

2.3 Bestaande liquid handling robots

2.3.1 Commerciële oplossingen (closed source)

Er bestaan een groot aantal commerciële, gesloten systemen die veel worden gebruikt in professionele laboratoria. Twee bekende voorbeelden hiervan zijn de Andrew+ van Andrew Alliance en de Opentrons OT-2. Hoewel deze systemen gebruiksklaar zijn en hoge precisie leveren, zijn ze gesloten qua ontwerp en software. Dit brengt beperkingen met zich op het vlak van aanpassing of integratie in onderwijsomgevingen.

Andrew+ is een geavanceerd pipetteerrobotplatform dat werkt met standaard elektronische pipetten. Het systeem onderscheidt zich door zijn modulaire “Domino” accessoires, die automatisch reagentia, tubes of microplaten kunnen beheren. Andrew+ wordt vaak gebruikt in farmaceutisch en klinisch onderzoek waar nauwkeurigheid, reproduceerbaarheid en traceerbaarheid cruciaal zijn (zie [18]). De softwareinterface, OneLab, is cloudgebaseerd en stelt gebruikers in staat workflows visueel te programmeren zonder codeerkennis. Deze aanpak verlaagt de leercurve, maar de gesloten softwareomgeving laat weinig ruimte voor technische aanpassingen.

Opentrons OT-2 is een populair alternatief voor laboratoria met een beperkter budget. Hoewel het oorspronkelijk als open-source project begon, is het in de praktijk grotendeels afhankelijk van Opentrons’ eigen ecosystemen. Het systeem gebruikt pipetteermodules met vaste volumes en kan via Python-scripts worden geprogrammeerd, wat flexibiliteit biedt. Toch blijft de hardware gesloten en is uitbreiding buiten de standaard modules beperkt. De OT-2 is breed inzetbaar in educatieve en klinische contexten, maar is qua aanschafprijs (\$15'000+) vaak buiten bereik voor scholen of individuele studentenprojecten.

Hoewel deze commerciële oplossingen krachtige en betrouwbare tools zijn voor vloeistofautomatisering, vormen hun gesloten aard en hogere kosten een barrière voor toegankelijkheid en aanpassing.

2.3.2 Open source oplossingen

In recente jaren zijn er meerdere open source oplossingen ontwikkeld om geautomatiseerd pipetteren toegankelijker te maken voor onderwijs- en onderzoeksomgevingen met beperkt budget. Twee opvallende systemen zijn de robot van Kopyl et al. (2024) en de Sidekick van Keesey et al. (2022).

3D-printer-gebaseerde oplossing (Kopyl et al.)

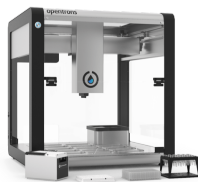
Kopyl et al. [19] ontwikkelden een geautomatiseerde pipetteerrobot gebaseerd op een Creality Ender 3 Pro 3D-printer. De extruder wordt vervangen door een adapter waarmee een standaard handmatige pipet kan worden bediend. De actuatie van de zuiger gebeurt via een ball screw aangedreven door een stappermotor, aangestuurd via G-code instructies. De nauwkeurigheid van het pipetteren is vergelijkbaar met manuele bediening. Het systeem biedt ondersteuning voor het gebruik van zowel air- als positieve displacement pipetten en meerkanaals pipetten. De totale kostprijs bedraagt ongeveer \$325 (waarvan \$250 voor de printer), waarmee het een bijzonder toegankelijke optie vormt voor laboratoriumautomatisering.

De end effector is een mechanische adapter die een commerciële pipet (zoals de Precipette) bedient door de plunjer axiaal in te drukken. De slag van de pipet kan in dit ontwerp enkel voor gebruik ingesteld worden door dit zelf in stellen (gelijkaardig aan een manuele pipet). Er is geen directe detectie van de pipetstand en het systeem werkt in open-loop.

Sidekick (Keesey et al.)

De Sidekick van Keesey et al. [20] is een volledig 3D-geprinte, open source robot die gebruik maakt van vier commerciële solenoïde-gedreven positieve displacement micropompen. Deze pompen doseren vloeistof in stappen van 10 μL . De beweging van de dispenserkop wordt gerealiseerd via een armatuur-gebaseerd systeem met twee vrijheidsgraden. De robot wordt aangestuurd door een Raspberry Pi Pico met MicroPython, en kan commando's ontvangen via USB in een eenvoudig tekstformaat of beperkte G-code. De totale kostprijs ligt rond de \$ 710, inclusief pompen.

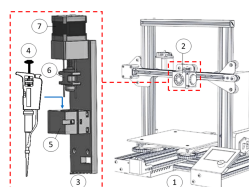
De end effector bestaat uit vier vaste uitgangen (P1-P4), elk verbonden met een micropomp. Er is geen bewegende zuiger of pipet; vloeistof wordt rechtstreeks vanuit een reservoir gepompt via PTFE-slangen naar het gewenste doel. Omdat enkel gedispenseerd wordt (zonder aspiratie), is deze setup vooral geschikt voor toepassingen zoals reagentia-distributie. Door het ontbreken van z-as-bewegingen is de mechanische complexiteit sterk gereduceerd.



Figuur 2.3: OT-2.
Prijs: \$15'000+
Bron: [21]



Figuur 2.4: Andrew+
Prijs: \$20'000+ [22]
Bron: [23]



Figuur 2.5: Kopyl et al.
Prijs: \$325
Bron: [19]



Figuur 2.6: Sidekick
Prijs: \$710
Bron: [20]

Hoofdstuk 3

Methode

In dit hoofdstuk wordt het ontwerp en de realisatie van de ontworpen pipet besproken. Hierbij worden de verschillende onderdelen behandeld, als ook de gemaakte keuzes.

3.1 Conceptueel ontwerp

3.1.1 Literatuurstudie

De Literatuurstudie bestond voor een groot deel uit het bestuderen van beschikbare patenten. Patenten zoals [15] en [16] beschrijven analoge pipetten. Deze worden nog manueel bediend en hebben een relatief eenvoudige werking. Deze patenten waren belangrijk om de basiswerking van moderne pipetten te begrijpen. Ze tonen namelijk aan dat deze pipetten met één eenvoudige zuigerwerking werken. Dit is een belangrijke stap bij het ontwerp van de automatische pipet.

Zie deelparagraaf 2.2.2 voor verdere toelichting betreffende de werking.

Verder werden de patenten [10], [17] en [24] bestudeerd. Deze patenten beschrijven de werking van een, motorisch aangedreven, elektronische pipet. In het geval van [17] en [24] wordt niet toegelicht welk type motor gebruikt wordt. In het geval van [10] wordt er vermeld dat er voor een stappermotor is gekozen. Deze patenten tonen aan dat de zuigerwerking van een pipet met een stappermotor kan gebeuren en dat deze met een hoge precisie kunnen werken. Ook dit is een belangrijke stap in het ontwerp van de automatische pipet.

3.2 Hardware ontwerp

Dit onderdeel behandelt de keuzes betreffende de hardware in dit project. De onderdelen die ge-3D-print zijn werden ontworpen in Autodesk Inventor en geprint met Prusa Mk3S en Mk4 printers.

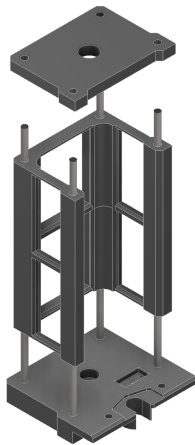
3.2.1 Muurelementen

Zoals eerder vernoemd is voor het hardware ontwerp gekozen voor een modulaire oplossing. Dit laat toe om de verschillende onderdelen onafhankelijk van elkaar te ontwikkelen en indien nodig aan te passen. Dit maakt het in de toekomst ook mogelijk om dit ontwerp uit te breiden tot bijvoorbeeld een meerkanaals systeem. De verschillende modules worden geplaatst over geleidestaven, zoals in Figuur 3.1 te zien is. Deze geleidestaven zorgen ervoor dat de verschillende modules correct uitgeleind en geplaatst worden.

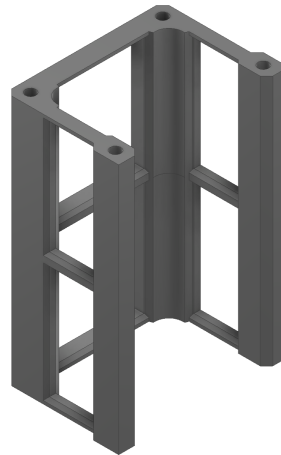
De muren zijn in PLA geprint. Aangezien de muren weinig structurele lasten moeten dragen is

PLA een geschikte keuze. In de latere iteraties zijn de muren verdund en zijn de vlakken verdwenen zoals in Figuur 3.2 te zien is. Dit maakt de muren lichter en goedkoper. De muren zijn ook in verschillende hoogtes ontworpen met een geparametriseerd model.

Het afgeleverde model bestaat uit een muurelement van 80mm en een muurelement van 30mm. Het element van 80mm bestond initieel uit twee elementen van 40mm. De naad tussen deze twee elementen had echter de neiging om te buigen. Hierdoor kon de geleideslede heel moeilijk over. Er is dan gekozen om de twee elementen samen te voegen en als één geheel te printen. Het element van 80mm voorziet ruimte voor de slag van de zuiger. Het muurelement van 30mm voorziet ruimte voor de askoppeling.



Figuur 3.1: Demonstratie van de geleidestaven.



Figuur 3.2: Het verdubbelde muurelement.

3.2.2 Bodemplaat en geleidestaven

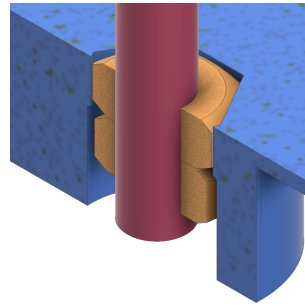
De muurelementen en geleidestaven worden op de bodemplaat gemonteerd. De bodemplaat is hiervoor voorzien van gaten waar de geleidestaven doorheen kunnen. Onderaan de geleidestaven bevinden zich twee tegengedraaide schroeven. Dit wordt bijvoorbeeld toegepast bij de montage van verkeerslichten zoals te zien in Figuur 3.3. Dit is een effectieve oplossing die gebruikt kan worden om ge-3D-printte elementen extra te versterken, alsook om de elementen in kleinere onderdelen te bevestigen en daarna aan te spannen. Zo wordt het in [25] meerdere keren gebruikt.

De tegengedraaide moeren (type ISO 4032-M3) passen in hiervoor voorziene gaten zoals te zien is in Figuur 3.4. Deze gaten bestaan uit twee trappen. De onderste trap heeft een zeshoekigevorm, gebaseerd op de afmetingen van de moer. De moer past net in dit gat maar kan slechts zeer weinig roteren. De tweede moer staat hier dan sterk tegenaan gedraaid zodat deze ook niet zal roteren. De tweede trap van het gat is een cilindrisch gat waarin de moer vrij kan roteren. Deze rotatie is echter niet wenselijk, het gat is enkel voorzien zodat de eerste moer, ongeacht de oriëntatie van de tweede moer, in het hexagonale gat kan worden ingebracht.



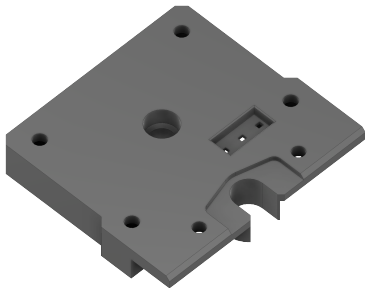
Figuur 3.3: Montage van verkeerslichten.

Bron: uitgesneden uit [26]

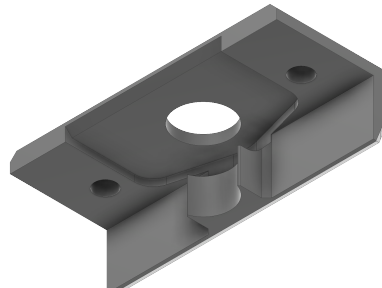


Figuur 3.4: Tegengedraaide moeren

De bodemplaat is voorzien van verschillende gaten en uitsparingen zoals te zien in. Zo zijn er vier gaten voor de geleidestaven. Ook is er een groot centraal gat voor de loodschroef. Hierin past een lager van formaat ID:4mm, OD:8mm. Verder is er een uitsparing waar een eindloopschakelaar past. Aan de rand is er een uitsparing waar de spuit in past. Rond deze uitsparing is er een verla-
ging waar de grepen van de spuit inpassen. Dit alles wordt met een klem vastgehouden doorheen de beweging. Deze klem past in de uitsparing en wordt vastgezet met twee M3 schroeven en de daarvoor voorziene gaten.



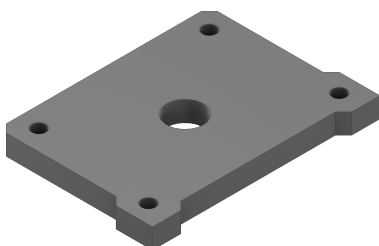
Figuur 3.5: Bodemplaat.



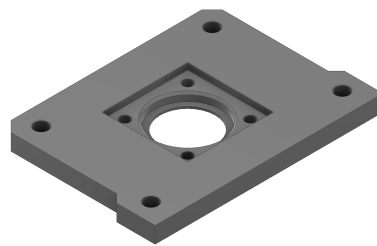
Figuur 3.6: Klem zuiger

3.2.3 Tussenplaat en motorplaat

Deze twee platen passen tussen de muurelementen. De tussenplaat vormt de grens tussen de askoppeling en de zuigerkamer. De motorplaat bevindt zich bovenaan en heeft een uitsparing voor een Nema 8 stappenmotor die met M2 schroeven bevestigd wordt.



Figuur 3.7: Tussenplaat.



Figuur 3.8: Motorplaat.

3.2.4 Loodschroef, motor en askoppeling

Voor de loodschroef is een schroef van het type T4 gekozen met een spoed en lood van 1mm. Er is een moer gekozen zonder anti-terugslag mechanische. Terugslag zal namelijk programatisch geëlimineerd worden. De moer heeft 3 gaten, van het formaat M3, die gebruikt worden om de geleideslede te bevestigen.

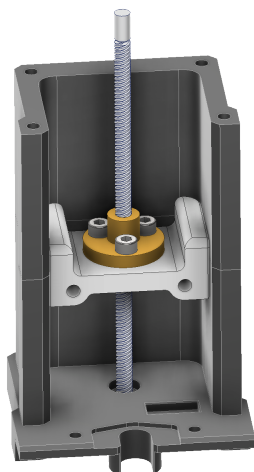
De motor is een Nema 8 stappermotor van het type 8HS15-0604D met een maximaal koppel van 0.4N-cm en een stapgrootte van 1.8° per stap. In eerste instantie werd in het ontwerp een zwakkere motor gebruikt (0.2N-cm). Deze mistte echter te veel stappen en is dus vervangen.

De askoppeling is een flexibele askoppeling van het type 4mm-4mm. Er is gekozen voor een flexibele askoppeling omdat, door het stuikgedrag van PLA na het bevestigen van de moeren, de assen niet meer perfect uitgelijnd zijn.

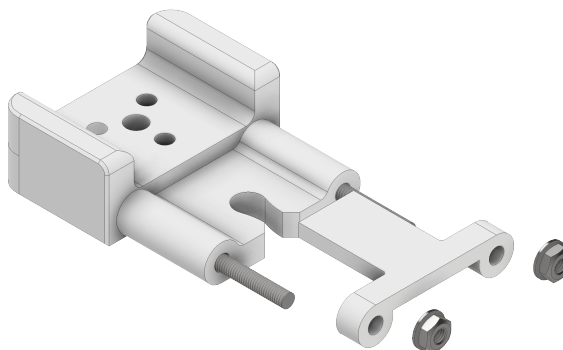
3.2.5 Geleideslede

De geleideslede is het onderdeel dat de zuiger aanstuurt. Deze bestaat uit 3 onderdelen. Het centrale onderdeel, de effectieve slede, is bevestigd met 3 M3 schroeven aan de moer van de loodschroef. Zoals te zien in Figuur 3.9 heeft de geleideslede hoge wanden. Deze aanpassing is later in het ontwerp gemaakt toen uit de initiële testen bleek dat de slede de neiging had om te oscilleren. Dit is nu sterk verminderd. Het grotere oppervlak zorgt echter wel voor meer weerstand maar tegenover de zuiger is dit verwaarloosbaar.

Aan de slede is ook een klem bevestigd. Deze is bevestigd met geleidestaven van 55mm met een bevestiging, gelijkaardig aan die van de grote geleidestaven. De klam bestaat uit twee delen. Het eerste deel heeft een gleuf waar de zuiger in wordt geschoven. De handvaten van de zuiger houden deze op zijn plaats bij de opwaartse slag. Daarna wordt er een bovenste klem bevestigd. Deze klemt de zuiger volledig in. De twee klemmende delen kunnen vervangen worden naargelang de dimensies van de zuiger.



Figuur 3.9: De geleideslede tussen de muren.



Figuur 3.10: De geleideslede. Inclusief de samengestelde zuigerklem.

3.2.6 Zuiger

Voor de zuiger is gekozen voor standaard verkrijgbare spuit met een volume van $1000\mu\text{l}$. Deze spuit kan vervangen worden naargelang de gebruikssituatie. In het huidige ontwerp wordt er gewerkt met een spuit van het merk DB, type ISO 7886–1 Luer Slip 1ml. Doordat deze spuit courant beschikbaar zijn kunnen ze, indien nodig, vervangen worden. Een belangrijk aspect bij de keuze voor een bestaande spuit was het feit dat ge-3D-print filament niet luchtdicht is en dus geen stabiel vacuüm zou kunnen onderhouden. Door een bestaande spuit te gebruiken kan deze bron van fouten deels verholpen worden.

3.3 Elektronica ontwerp

3.3.1 Componentenlijst

| Component | Type | Aantal |
|---------------------|-----------------------------|--------|
| Motor | Nema 8 (8HS15–0604D) | 1 |
| Motor driver | BigTreeTech TMC2209 | 1 |
| Microcontroller | ESP32-WROOM-32 | 1 |
| eindeloopschakelaar | Micro Limit switch | 1 |
| 5V Voeding | Vrij te kiezen ¹ | 1 |

Tabel 3.1: Componentenlijst.

3.3.2 Motor

Zoals eerder vermeld in deelparagraaf 3.2.4 is er gekozen voor een Nema 8 motor met een koppel van 0.4N-cm. Dit koppel is voldoende om één zuiger aan te drijven. Een Nema 8 motor is een motor met een relatief klein formaat en past daardoor binnen de afmetingen van het ontwerp. Zoals reeds vernoemd was het ontwerp initieel uitgevoerd met een Nema 8 motor met een koppel van 0.2N-cm. Dit bleek echter te weinig. Deze motor kon de gewenste aspiratiesnelheden niet bereiken en kon de weerstand van de zuiger en geleideslede niet overwinnen.

De motor heeft 4 aansluitingen (2 per fase) en wordt in dit ontwerp in een open lus gestuurd. Om de fouten te minimaliseren wordt er aangeraden om de pipet zo vaak mogelijk naar de nulpositie te brengen. Hier is een eindeloopschakelaar voor voorzien.

3.3.3 Driver

Er is gekozen voor een TMC2209 stappermotor driver. Deze driver heeft een belangrijk voordeel. Deze kan gebruik maken van zogeheten “StealthChop” technologie. Dit zorgt voor een stillere motorwerking. Belangrijk voor deze toepassing is er een soepeler motorverloop met hogere nauwkeurigheid en minder ruis. Een constante pipetteersnelheid is een belangrijke factor in de nauwkeurigheid van de handling. Anderzijds zorgt de het verbeterde stroomprofiel ook voor een verhoging van het effectieve koppel van de motor. [27]

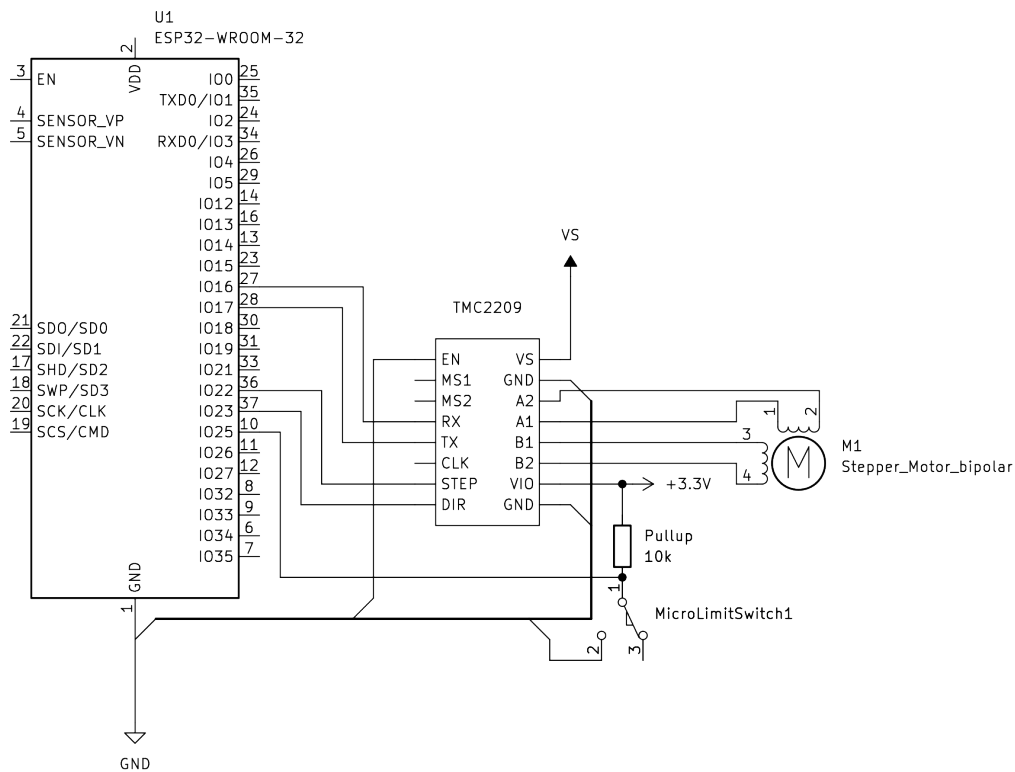
3.3.4 Microcontroller

Voor de controller is er een ESP32-WROOM-32 gekozen. Deze is voornamelijk gekozen vanwege de hoge kloksnelheid van 80 MHz tot 240 MHz (zie [28]). Door deze hoge kloksnelheid kan de controller zeer snel stap-signalen naar de driver sturen. Dit is interessant omdat de TMC2209 driver

¹ $I_{bron} > 1.7A$

bij kleinere micorstepping een steeds vlotter stroomverloop kan voorzien. Bij micorstepping is de maximale snelheid van de motor echter lager bij een constant aantal stappen/s. Deze stapssnelheid is beperkt door de klok van de controller. De ESP32-WROOM-32 kan de motor dus aan een hoger toerental aandrijven dan meeste andere controllers. Verder is de controller relatief goedkoop (circa €10) en makkelijk te verkrijgen.

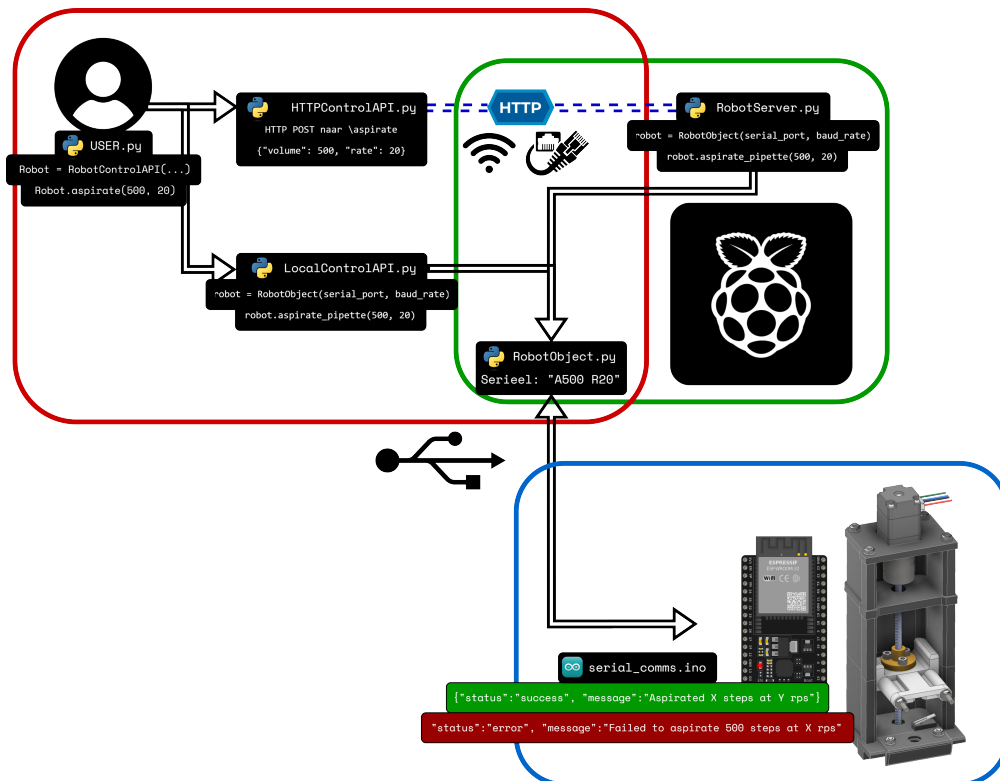
3.3.5 Aansluiting



Figuur 3.11: Schema van de aansluiting.

De aansluiting van de elektronische componenten gebeurt zoals in Figuur 3.11 te zien is. De motor wordt aangesloten op de TMC2209 driver. Deze driver wordt aangesloten op de ESP32-WROOM-32. De eindeloopschakelaar wordt ook aangesloten op de ESP32-WROOM-32. De voeding van de motor en driver is een 5V voeding. Deze voeding kan vrij gekozen worden, zolang deze maar voldoende stroom kan leveren. De voeding van de ESP32-WROOM-32 kan ook vrij gekozen worden, zolang deze tussen de 3.3V en 5V ligt. De aansluiting van TX en RX aan de driver is vrijblijvend, maar is wel aangeraden aangezien hiermee de stroomlimiet en microstapgrootte geconfigureerd kunnen worden.

3.4 Software ontwerp



Figuur 3.12: Flowchart communicatie (met als voorbeeld aspireer 500 μ l aan 20 μ l/s).

3.4.1 Belangrijke functionaliteit in de software

- **Nulzetten van de robot:** elke sessie begint met het nulzetten van de pipet via een einde-loopschakelaar.
- **Veiligheidsgrenzen:** softwarematig worden de minimale en maximale volumes bewaakt.
- **Commandostructuur:** communicatie gebeurt via eenvoudige commando's zoals "A500 R20" (aspireer 500 μ l aan 20 μ l/s) en "Z" (zero).
- **Logging en foutafhandeling:** alle acties en fouten worden gelogd met behulp van colorlog.

De software bestaat uit drie lagen: de gebruikersinterface, de middleware (robot control API) en de firmware op de ESP32. Figuur 3.12 toont het overzicht van de communicatie tussen de verschillende modules.

3.4.2 Opbouw van de software

Zoals te zien in de flowchart, start de gebruiker een sequentie via een Python-script. Dit script gebruikt ofwel een HTTP-client of een lokale seriële client, afhankelijk van de gekozen werkmethode. De HTTP-client communiceert met een HTTP-server op bijvoorbeeld een RaspberryPy. De lokale client daarentegen communiceert rechtstreeks met "RobotObject". Beide clients maken gebruik van dezelfde methodes zoals aspirate, dispense, zero_robot, enz., maar verschillen in hun onderliggende communicatielaag.

Nadat een methode is opgeroepen bij "LocalRobotControlAPI" of bij "RobotServer" zullen deze

de nodige methode oproepen bij “RobotObject”. “RobotObject” staat in voor het opmaken van de commando's en de communicatie met de ESP32 via de seriële lijn. Door de functionaliteit van “RobotObject” in een zelfstandig object te vervatten kan de communicatie met de gebruiker aangepast worden zonder hiermee de communicatie met de ESP32 te beïnvloeden.

De ESP32 verwerkt de ontvangen commando's, vertaalt ze naar motoraansturing en stuurt deze door naar de stepper driver, gebruik makend van de ESPFlexy-Stepper bibliotheek. Na elke actie wordt een JSON-respons teruggestuurd naar de Python-client, die deze logt en indien nodig verder verwerkt.

3.5 Nauwkeurighedsanalyse

Het testen van de nauwkeurigheid gebeurt volgens de gravimetrische methode volgens [29].

3.6 Nauwkeurighedsanalyse

Voor de kalibratie wordt gebruikgemaakt van gravimetrische meting met gedeïoniseerd water en een analytische balans met een resolutie van 0,01 mg. Voor elk ingestelde volume ($100\mu\text{L}$, $200\mu\text{L}$, ..., 1ml) wordt dertig keer getest. De gemeten massa m_i van het opgenomen water wordt omgezet naar volume V_i met behulp van de dichtheid ρ van water bij kamertemperatuur ($1,0025\text{ g/mL}$):

$$V_i = \frac{m_i}{\rho} \quad (3.1)$$

Het gemiddelde volume \bar{V} voor de 10 metingen wordt berekend als:

$$\bar{V} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_i \quad (3.2)$$

De systematische fout (nauwkeurigheid) e_s wordt dan gedefinieerd als:

$$e_s = \bar{V} - V_s \quad (3.3)$$

waarbij V_s het ingestelde doelvolumen is. De precisie wordt uitgedrukt als de standaarddeviatie (random error S_r) van de metingen:

$$S_r = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2} \quad (3.4)$$

Hoofdstuk 4

Resultaten

Voor de ingestelde volumes voldeden alle vier de kanalen aan de ISO 8655 toleranties van maximaal $\pm 4\mu L$ systematische fout en $\pm 1,5\mu L$ random fout. Bijvoorbeeld, voor een ingesteld volume van $200\mu L$ waren de gemiddelde volumes respectievelijk $203,9\mu L$, $201,5\mu L$, $201,8\mu L$ en $202,8\mu L$, met systematische fouten tussen 1,5 en $3,9\mu L$ en random fouten onder $1,3\mu L$, zie ook Tabel 4.1.

| Gewenste Volume | Gemiddelde (μL) | Systematische fout (μL) | Random fout (μL) |
|-----------------|------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| 100 | 99.9 | -0.1 | 0.67 |
| 200 | 203.9 | 3.9 | 0.51 |
| 300 | 000 | 000 | 000 |
| 400 | 000 | 000 | 000 |
| 500 | 000 | 000 | 000 |
| 600 | 000 | 000 | 000 |
| 700 | 000 | 000 | 000 |
| 800 | 000 | 000 | 000 |
| 900 | 000 | 000 | 000 |
| 1000 | 000 | 000 | 000 |

Tabel 4.1: Resultaten van nauwkeurigheidstesten per kanaal (n=10).

Deze resultaten tonen aan dat het systeem voldoet aan de eisen van ISO 8655 voor zowel precisie als nauwkeurigheid, en dus geschikt is voor gebruik in laboratoriumomgevingen met hoge kwaliteitseisen. Hierbij wordt het voorbeeld gevolgd van [30]. Hier wordt ook een spuit-gebaseerd ontwerp getest op nauwkeurigheid met een beschreven procedure.

Hoofdstuk 5

Conclusies

Bibliografie

- [1] P. Groth and J. Cox, "Indicators for the use of robotic labs in basic biomedical research: a literature analysis," *PeerJ*, vol. 5, p. e3997, 2017. [Online]. Available: <https://dx.doi.org/10.7717/peerj.3997>
- [2] M. Baker, "1,500 scientists lift the lid on reproducibility," *Nature*, vol. 533, no. 7604, pp. 452–454, 2016. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/533452a>
- [3] Z. Chen, "The reproducibility crisis in scientific research: Causes and solutions," *International Journal of Open Publication and Exploration*, vol. 8, no. 2, pp. 30–35, 2020. [Online]. Available: <https://ijope.com/index.php/home/article/view/81>
- [4] Y. Gil and D. Garijo, "Towards automating data narratives," p. 565–576, 2017. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1145/3025171.3025193>
- [5] C. G. Begley and L. M. Ellis, "Raise standards for preclinical cancer research," *Nature*, vol. 483, no. 7391, pp. 531–533, 2012. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/483531a>
- [6] X. L. Guan, D. P. S. Chang, Z. X. Mok, and B. Lee, "Assessing variations in manual pipetting: An under-investigated requirement of good laboratory practice," *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab*, vol. 30, pp. 25–29, 2023. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667145X23000317>
- [7] A. Christler *et al.*, "Semi-automation of process analytics reduces operator effect," *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 43, no. 5, pp. 753–764, 2020. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02254-y>
- [8] S. J. Slate, C. C. Tryon, F. E. Uribe, W. Howland, M. Marshall, and R. C. Voicu, "Improving biomedical systems with robotics & automation," in *2022 IEEE 19th International Conference on Smart Communities: Improving Quality of Life Using ICT, IoT and AI (HONET)*, 2022, Conference Proceedings, pp. 105–110.
- [9] T. W. Astle, "Small volume pipetting," *Journal of the Association for Laboratory Automation*, vol. 3, no. 3, pp. 62–64, 1998, doi: 10.1177/221106829800300317. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1177/221106829800300317>
- [10] E. Nelson Gary *et al.*, "Electronic pipettor with improved accuracy," 2009/04/13 2012.
- [11] H. A. Henke and A. G. Eppendorf, "Five challenges in plate assays that can be mastered by the right choice of pipetting tool."
- [12] W. E. Bunney, "Pipettes for use in routine sterility tests," *American Journal of Public Health and the Nations Health*, vol. 25, no. 2, pp. 207–208, 1935.
- [13] A. J. Swallow, "A new type of pipette for radioactive solutions," *Nature*, vol. 165, no. 4189, pp. 249–249, 1950. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/165249b0>

- [14] W. E. Barkley, "Mouth pipetting: A threat more difficult to eradicate than small pox," *Journal of the American Biological Safety Association*, vol. 2, no. 2, pp. 7–10, 1997.
- [15] J. Shapiro Justin, "Adjustable volume pipette sampler," 1986/08/08 1988. [Online]. Available: <https://lens.org/058-975-318-278-382>
- [16] K. Al-Mahareeq and A. Al-Mahrouq Hasan, "Pipette with an axially stationary volume adjusting wheel," 1992/05/13 1994.
- [17] M. Lind and A. Pekkanen, "Electronic pipette," 2014/12/10 2019. [Online]. Available: <https://lens.org/074-841-253-011-156>
- [18] I. Semac, G. Horak, A. Jordan, and P. Zucchelli, "Pipetting performances by means of the andrew robot," Andrew Alliance, Tech. Rep., 2013.[Online]. Available: [http://www ...](http://www...), Tech. Rep., 2013.
- [19] A. Kopyl, Y. Yew, J. W. Ong, T. Hiscox, C. Young, M. Muradoglu, and T. W. Ng, "Automated liquid handler from a 3d printer," *Journal of Chemical Education*, vol. 101, no. 2, pp. 640–646, 2024, doi: 10.1021/acs.jchemed.3c00855. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.3c00855>
- [20] R. Keesey, R. LeSuer, and J. Schrier, "Sidekick: A low-cost open-source 3d-printed liquid dispensing robot," *HardwareX*, vol. 12, p. e00319, 2022. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468067222000645>
- [21] "Ot-2 robot - opentrons." [Online]. Available: <https://opentrons.com/products/ot-2-robot?sku=999-00111>
- [22] "Andrew alliance - robot andrew+ [robotique]," 2025 2025. [Online]. Available: https://www.grosseron.com/robot-andrew-andrew-alliance_48-1491-1-3715-1-18887.html#
- [23] A. Rodriguez, "Andrew+ the pipetting robot." [Online]. Available: <https://www.andrewalliance.com/pipetting-robot/>
- [24] S. Solotareff, Y.-A. May, C. Langlais, P. Remy, and P. Haddad, "Electronic pipette and control system with wireless communication," 2004/11/24 2013. [Online]. Available: <https://lens.org/132-486-832-325-254>
- [25] A. Chappel, "I 3d printed a \$13,238.95 camera arm (again)," 02 2025. [Online]. Available: https://youtu.be/9iM5l16CQjU?si=6UGh9_rkKb9gxgEg&t=890
- [26] M. Vergauwen, "Dit verandert er in de nieuwe 'wegcode'," *VAB magazine*, 2023 2023. [Online]. Available: <https://magazine.vab.be/op-weg/nieuwe-wegcode/>
- [27] *TMC2209 Datasheet*, TRINAMIC Motion Control, 2023. [Online]. Available: https://www.analog.com/media/en/technical-documentation/data-sheets/tmc2209_datasheet_rev1.09.pdf
- [28] *ESP32-WROOM-32 Datasheet*, Espressif Systems, 2023. [Online]. Available: https://www.espressif.com/sites/default/files/documentation/esp32-wroom-32_datasheet_en.pdf
- [29] "Piston-operated volumetric apparatus – Gravimetric reference measurement procedure for the determination of volume," International Organization for Standardization, Geneva, CH, Standard, Apr. 2022.
- [30] C. Shubham, K. Hrishikesh, M. Ketan, and M. P. Joshua, "Open source 3d printed iso 8655 compliant multichannel pipette," 2022. [Online]. Available: <https://research.ebsco.com/linkprocessor/plink?id=4113d224-f527-32ea-afb9-c8dab6afed9b>

Bijlage A