



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 Reproduceerbaarheids crisis	1
1.3 Robotic labs als oplossing voor reproduceerbaarheids crisis	2
1.4 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 Analoge pipetten	3
2.2.2 Elektronische pipetten	4
2.3 Bestaande liquid handling robots	4
2.3.1 Commerciële oplossingen (closed source)	4
2.3.2 Open source oplossingen	4
3 Methode	6
3.1 Conceptueel ontwerp	6
3.1.1 Literatuurstudie	6
3.2 Hardware ontwerp	6
3.2.1 Muurelementen	6
3.2.2 Bodemplaat en geleidestaven	6
3.2.3 Tussenplaat en motorplaat	6
3.2.4 Loodschroef, motor en askoppeling	7
3.2.5 Geleideslede	7
3.2.6 Zuiger	7
3.3 Elektronica ontwerp	7
3.3.1 Componentenlijst	7
3.3.2 Motor	7
3.3.3 Driver	7
3.3.4 Microcontroller	7
3.3.5 Aansluiting	7
3.4 Software ontwerp	8
3.4.1 Belangrijke functionaliteit in de software	8
3.4.2 Opbouw van de software	8

4 Resultaten	10
5 Conclusies	11
Bibliografie	12
Appendices	14
A	14

Lijst van figuren

2.1	US4744955.	4
2.2	US5320810.	4
2.3	OT-2.	5
2.4	Andrew+.	5
2.5	Kopyl et al.	5
2.6	Sidekick	5
3.1	Schematische aansluiting van de elektronische componenten.	8
3.2	Overzicht van de softwarearchitectuur en communicatie tussen modules.	9

Lijst van tabellen

3.1	Componentenlijst.	7
4.1	Resultaten van nauwkeurigheidstesten per kanaal (n=10).	10

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]

1.3 Robotic labs als oplossing voor reproduceerbaarheids crisis

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 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 [7] of lookup-tabellen zoals in [8]. 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 [7].

Theoretische achtergrond

In [7] 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

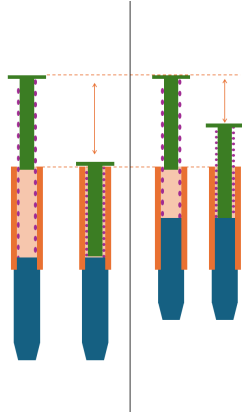
Positive displacement pipetten zijn een alternatieve oplossing waarbij er wel contact is tussen de vloeistof en de zuiger. Er treden dus geen oppervlaktespanningen op aangezien de vloeistof overal contact maakt met de zuiger. Dit heeft voordelen op vlak van precisie. Vooral bij vloeistoffen die sterk verschillen van water. Zo worden positive displacement pipetten in [9] 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

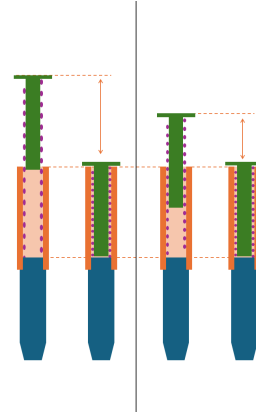
2.2.1 Analoge pipetten

Analoge pipetten werken met een zuigermechanisme, waarbij het volume wordt ingesteld door de slag van de zuiger aan te passen. In [10] gebeurt dit via een instelwiel dat de zuigerstang verplaatst,

waardoor het volume verandert. Bij [11] wordt het volume ingesteld door het ondergedeelte van de pipet in te schroeven, wat de zuigerpositie en slag aanpast. De pipetten gebruiken meestal air-displacement, maar er zijn ook varianten met positieve displacement. De pipetten in [11] zijn eenvoudiger, maar kunnen meer lekkage en onnauwkeurigheid vertonen dan de versie in [10].



Figuur 2.1: US4744955.
(naar [11])



Figuur 2.2: US5320810.
(naar [10])

2.2.2 Elektronische pipetten

Elektronische pipetten gebruiken motoren (vaak met een loodschroef) zoals stappermotoren om de zuiger nauwkeurig te verplaatsen. In [8] wordt microstepping gebruikt om de beweging te verfijnen, wat een nauwkeurigheid van enkele nanoliters mogelijk maakt. Het systeem kan verder worden geoptimaliseerd met een lookup- en calibratietabel. Problemen kunnen optreden bij gemiste stappen, wat leidt tot volumefouten. In [12] wordt een sensor gebruikt voor een closed-loop systeem om deze fouten te corrigeren.

2.3 Bestaande liquid handling robots

2.3.1 Commerciële oplossingen (closed source)

Commerciële systemen zoals Andrew+ en Opentrons OT-2 zijn populaire keuzes in laboratoria. Andrew+ biedt geavanceerde functionaliteit en is modulair, maar heeft een gesloten software-omgeving. Opentrons OT-2 is betaalbaarder, maar is ook gesloten wat betreft hardware- en software-aanpassingen. Beide systemen zijn gebruiksvriendelijk, maar de gesloten aard en hoge kosten maken ze vaak minder geschikt.

2.3.2 Open source oplossingen

Open source oplossingen maken pipetteren toegankelijker voor kleinere instellingen. Twee voorbeelden zijn de robot van Kopyl et al. (2024) en de Sidekick van Keesey et al. (2022).

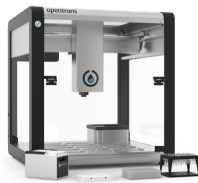
3D-printer-gebaseerde oplossing (Kopyl et al.)

Kopyl et al. [13] ontwikkelden een pipetterobot op basis van een Creality Ender 3 Pro 3D-printer. De pipet wordt aangedreven door een stappermotor via een ball screw, en kan zowel air- als positieve displacement pipetten bedienen. Het systeem is goedkoop (ca. \$325) en gebruikt open-loop controle zonder detectie van de pipetstand. Het te pipetteren volume moet door de gebruiker manueel worden ingesteld.

Sidekick (Keesey et al.)

De Sidekick [14] is een 3D-geprinte robot met vier solenoïde-gedreven micropompen voor positieve displacement. De robot wordt aangestuurd door een Raspberry Pi Pico en kan via eenvoudige tekstcommando's of beperkte G-code worden bediend. De kosten bedragen ongeveer \$710.

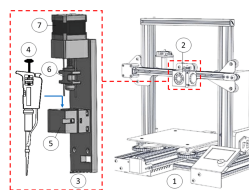
De end effector bestaat uit vier vaste uitgangen (P1-P4), elk verbonden met een micropomp. Er is geen bewegende zuiger of pipet; vloeistof wordt rechtstreeks vanuit een reservoir gepompt via PTFE-slangen naar het gewenste doel. Omdat enkel gedispenseerd wordt (zonder aspiratie), is deze setup vooral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



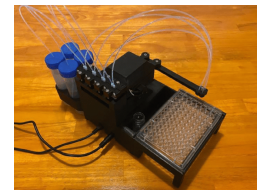
Figuur 2.3: OT-2.
Prijs: \$15'000+
Bron: [15]



Figuur 2.4: Andrew+
Prijs: \$20'000+ [16]
Bron: [17]



Figuur 2.5: Kopyl et al.
Prijs: \$325
Bron: [13]



Figuur 2.6: Sidekick
Prijs: \$710
Bron: [14]

Hoofdstuk 3

Methode

In dit hoofdstuk wordt het ontwerp en de realisatie van de pipet besproken, evenals de gemaakte keuzes.

3.1 Conceptueel ontwerp

3.1.1 Literatuurstudie

De literatuurstudie bestaat uit patenten zoals [11] en [10] die analoge pipetten beschrijven. Deze patenten tonen aan dat deze pipetten een eenvoudige zuigerwerking gebruiken, wat belangrijk is voor het ontwerp. Patenten zoals [8], [12], en [18] tonen aan dat een stappermotor gebruikt kan worden voor de zuigerwerking met hoge precisie.

3.2 Hardware ontwerp

Dit gedeelte behandelt de hardwarekeuzes. De onderdelen werden ontworpen in Autodesk Inventor en geprint met Prusa Mk3S en Mk4 printers.

3.2.1 Muurelementen

Er werd gekozen voor modulaire elementen, wat toekomstige uitbreidingen mogelijk maakt. De muren zijn geprint in PLA, wat voldoende is voor de structurele belasting. In latere iteraties werden de muren lichter en goedkoper door de vlakken te verwijderen. De muurelementen zijn geparametriseerd voor verschillende hoogtes. Het 80mm-element voorziet ruimte voor de zuiger, en het 30mm-element voor de askoppeling.

3.2.2 Bodemplaat en geleidestaven

De muurelementen en geleidestaven worden op de bodemplaat gemonteerd. De bodemplaat heeft gaten voor de geleidestaven en andere onderdelen zoals de eindeloopschakelaar en spuit. De tegengedraaide moeren zorgen voor extra stevigheid en bevestigen de ge-3D-printte elementen.

3.2.3 Tussenplaat en motorplaat

De tussenplaat scheidt de askoppeling en de zuigerkamer. De motorplaat heeft ruimte voor de Nema 8 stappermotor, die met M2-schroeven wordt bevestigd.

3.2.4 Loodschroef, motor en askoppeling

De T4-loodschroef heeft een spoed en lood van 1mm. De motor is een Nema 8 stappermotor (0.4N-cm koppel) die krachtig genoeg is om de zuiger aan te drijven. De flexibele askoppeling compenseert voor kleine misaligneringen door het 3D-printen.

3.2.5 Geleideslede

De geleideslede bestuurt de zuiger en is versterkt met hoge wanden om oscillaties te verminderen. De zuiger wordt vastgeklemd met een twee-delige klem die vervangbaar is afhankelijk van de zuigermaat.

3.2.6 Zuiger

Er is gekozen voor standaard verkrijgbare 1000 μ l-spuiten (DB ISO 7886–1 Luer Slip 1ml) om luchtdichte problemen te voorkomen. Deze spuiten kunnen eenvoudig vervangen 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

De gekozen Nema 8 motor heeft een koppel van 0.4N-cm, voldoende om de zuiger te verplaatsen. De motor wordt gestuurd in een open lus en moet regelmatig naar de nulpositie worden gebracht met een eindeloopschakelaar.

3.3.3 Driver

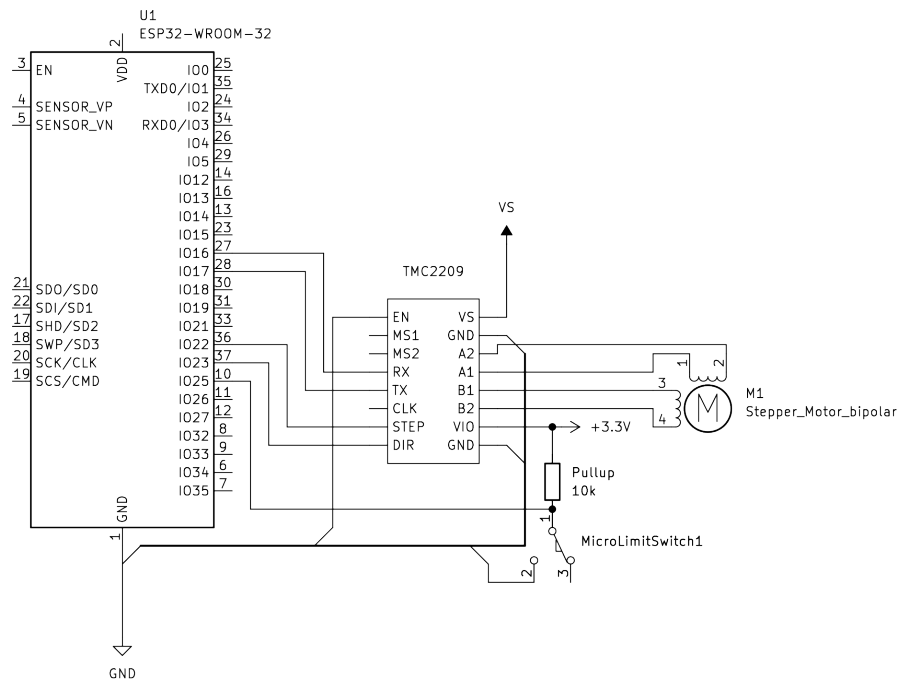
De TMC2209 stappermotor driver gebruikt de “StealthChop”-technologie, wat zorgt voor stillere en soepelere motorwerking met hogere precisie.

3.3.4 Microcontroller

De ESP32-WROOM-32 is gekozen voor zijn hoge kloksnelheid, wat zorgt voor een snelle respons bij het sturen van stap-signalen naar de motor.

3.3.5 Aansluiting

De elektronische componenten zijn aangesloten zoals te zien in Figuur 3.1, met de motor verbonden aan de TMC2209 driver en de ESP32. De voeding is 5V, en de ESP32 vereist een voeding tussen 3.3V en 5V.



Figuur 3.1: Schematische aansluiting van de elektronische componenten.

3.4 Software ontwerp

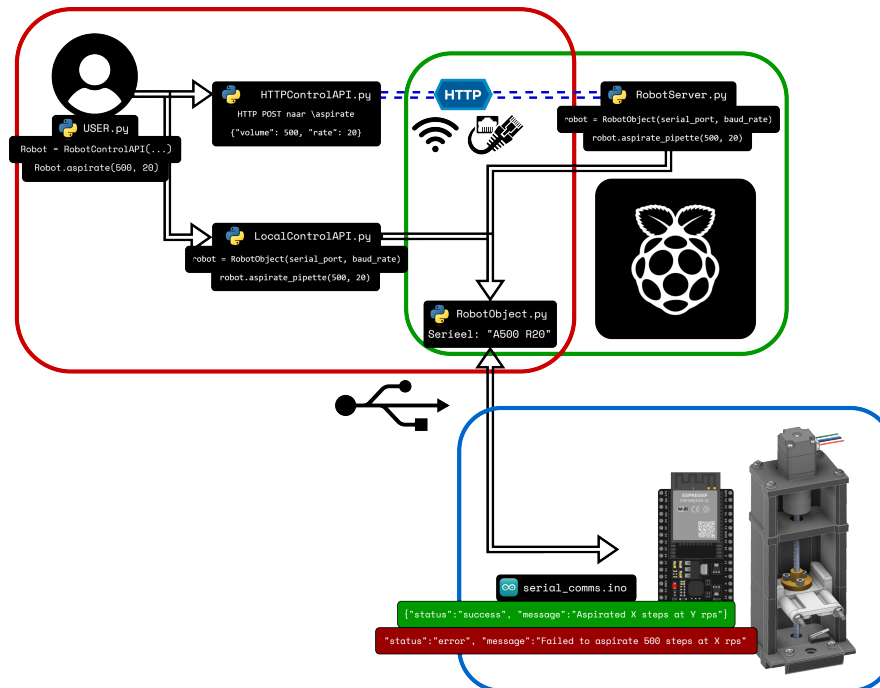
3.4.1 Belangrijke functionaliteit in de software

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

De software is opgebouwd uit drie lagen: de gebruikersinterface, de middleware (robot control API), en de firmware op de ESP32. Figuur 3.2 toont het overzicht van de communicatie tussen de modules.

3.4.2 Opbouw van de software

De gebruiker start een sequentie via een Python-script, dat via een HTTP- of lokale seriële client de methoden aanroept. Na de methode-aanroep wordt de communicatie via de seriële lijn naar de ESP32 gestuurd, die de motor aanstuurt en een JSON-respons terugstuurt naar de client.



Figuur 3.2: Overzicht van de softwarearchitectuur en communicatie tussen modules.

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 [19]. 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] 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>
- [8] E. Nelson Gary *et al.*, "Electronic pipettor with improved accuracy," 2009/04/13 2012.
- [9] H. A. Henke and A. G. Eppendorf, "Five challenges in plate assays that can be mastered by the right choice of pipetting tool."
- [10] K. Al-Mahareeq and A. Al-Mahrouq Hasan, "Pipette with an axially stationary volume adjusting wheel," 1992/05/13 1994.
- [11] J. Shapiro Justin, "Adjustable volume pipette sampler," 1986/08/08 1988. [Online]. Available: <https://lens.org/058-975-318-278-382>
- [12] M. Lind and A. Pekkanen, "Electronic pipette," 2014/12/10 2019. [Online]. Available: <https://lens.org/074-841-253-011-156>
- [13] 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>

- [14] 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>
- [15] "Ot-2 robot - opentrons." [Online]. Available: <https://opentrons.com/products/ot-2-robot?sku=999-00111>
- [16] "Andrew alliance - robot andrew+ [robotique]," 2025 2025. [Online]. Available: https://www.grosseron.com/robot-andrew-andrew-alliance_48-1491-1-3715-1-18887.html#
- [17] A. Rodriguez, "Andrew+ the pipetting robot." [Online]. Available: <https://www.andrewalliance.com/pipetting-robot/>
- [18] 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>
- [19] 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