



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110487979 A

(43)申请公布日 2019.11.22

(21)申请号 201910871374.3

(22)申请日 2019.09.16

(71)申请人 劲牌有限公司

地址 435100 湖北省黄石市大冶市大冶大道169号

(72)发明人 石姣 杨强 刘源才 童国强

陆世广 石莹莹 乐细选 倪书干

(74)专利代理机构 黄石市三益专利商标事务所

42109

代理人 林晓珍

(51)Int.Cl.

G01N 33/14(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页

(54)发明名称

一种饮酒后舒适度的检测方法

(57)摘要

本发明公开了一种饮酒后舒适度的检测方法,它是通过测量实验动物在灌胃饮酒后不同时间或相同时间的血样本的渗透压,根据渗透压值判断实验动物饮酒后的舒适度变化或差异,以评价饮用同一种酒后的舒适变化或者对比饮用多种酒后的舒适度差异;本发明从临床前药理研究方向出发,以药理动物实验为基础研究方法,利用血液渗透压与大/小鼠灌胃饮酒后的机体舒适度的关系,客观考察酒类饮后机体舒适度变化及筛选出饮后舒适度较佳的酒体,从而指导不同酒类产品的品质对比,为白酒等酒产品开发和品质升级提供技术支撑;该方法具有操作简便,客观表达,检测灵敏度高、抗环境干扰能力强等特点,为白酒等酒类饮后舒适度研究方法提供了一个全新的思路。

1. 一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于:所述检测方法是通过测量实验动物在灌胃饮酒后不同时间或相同时间的血样本的渗透压,根据渗透压值判断实验动物饮酒后的舒适度变化或差异,以评价饮用同一种酒后的舒适变化或者对比饮用多种酒后的舒适度差异。

2. 根据权利要求1所述的一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于:同一组别的实验动物灌胃饮用同一种酒后的不同时间,当其血样本渗透压升高,表示其机体的舒适度降低,当其血样本渗透压降低至正常,表示其机体的舒适度逐渐恢复至正常。

3. 根据权利要求2所述的一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于:通过实验动物灌胃饮用某一种酒后的不同时间血样本渗透压的变化,判断实验动物的饮后舒适度变化,从而评价饮用某一种酒后舒适度的变化。

4. 根据权利要求3所述的一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于,评价饮用某一种酒后的舒适度变化,下述实验方案通过动物实验伦理审查,具体包括以下步骤:

将实验动物禁食、自由饮水、灌胃饮酒;

在饮后不同的时间,对实验动物取血,并测量血样本的渗透压;

根据实验动物灌胃饮酒后不同时间点取血样本的渗透压,判断实验动物饮酒后机体的舒适度变化,以评价饮用某一种酒后的舒适度变化。

5. 根据权利要求1所述的一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于:不同组别的实验动物灌胃饮用不同酒后,对比同一时间各组血样本渗透压,渗透压高的表示其机体的舒适度较差,渗透压低的表示其机体的舒适度较好。

6. 根据权利要求5所述的一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于:通过不同组别的实验动物灌胃饮用不同酒后的同一时间各组血样本渗透压差异,对比实验动物的饮后舒适度差异,从而评价饮用不同酒的舒适度差异。

7. 根据权利要求6所述的一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于,评价饮用不同种类的酒后舒适度差异,下述实验方案通过动物实验伦理审查,具体包括以下步骤:

将实验动物随机分成若干组,对所有实验动物禁食、自由饮水,分组依次灌胃饮水、饮酒;

间隔相同时间,分别对各组的实验动物取血,并测量各组血样本的渗透压;

根据实验动物灌胃饮酒后同一时间取血样本的渗透压,判断实验动物饮酒后机体的舒适度差异,以评价饮用不同种类的酒后舒适度差异。

8. 根据权利要求4或7所述的一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于,所述实验动物具有实验动物生产许可证且其使用方法经过单位“动物使用和管理委员会”批准,选用适应性喂养良好的,于灌胃前12-16h,对所有动物禁食、自由饮水。

9. 根据权利要求4或7所述的一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于,所述实验动物的灌酒体积为0.05-0.20mL/10g.bw。

10. 根据权利要求4或7所述的一种饮酒后舒适度的检测方法,其特征在于,测量血样本渗透压的方法是:对实验动物取血后,先将血样本静置10-30min后,以2000-5000r/min离心5-20min,取上层清液,再测量所述上层清液的渗透压。

一种饮酒后舒适度的检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及药理研究技术领域,具体是一种饮酒后舒适度的检测方法。

背景技术

[0002] 酒类消费具有全球性,在新时期随着人们对健康的关注度不断提高,酒类消费也呈现出健康趋势。其中,对饮酒后舒适度的追求逐渐成为酒类健康消费模式的一种。在中国,白酒酿造具有五千年历史,人们对酒类饮用舒适度的关注也主要集中在白酒产品,其他也包括保健酒、黄酒等。

[0003] 饮用舒适度一般包括两个方面,一方面是指饮用过程中的舒适度,包括饮用时对白酒色、香、味的整体感受,即入口好;另一方面是指饮后的舒适度,即指饮后的生理反应,是否上头、是否口干、醒酒快不快。而不上头、不口干、醒酒快,则是白酒消费者追求的最佳饮后舒适度。大量研究显示,白酒饮后舒适度的影响因素较多且复杂。其中,白酒中主要成分对白酒饮后舒适度的影响较大,如白酒中的酒精、高级醇及羰基化合物等,且其影响与饮酒者机体的分解、代谢能力有关。同时,白酒饮后舒适度与酒中各类微量元素的种类、比值是否合适也息息相关。影响酒类饮后舒适度的相关因素如此繁多,而评价酒类饮后舒适度的客观方法却较少,这为开展酒类品质提升相关技术研究带来了阻碍。

[0004] 目前,关于白酒饮后舒适度的评价具备一定的研究基础,如白酒饮后舒适度的评价方法,主要是通过人体饮用并完成相关评价问卷来确定某一种白酒的饮后舒适度或多种白酒的饮后舒适度差异。所采用的评价问卷主要关于饮后是否上头、是否口干等问题设置,而饮酒者回答问卷问题时自身具有主观性。同时,也有一些借鉴动物实验开展醉酒度研究的评价方法,如基于“小鼠翻正反射消失和恢复试验”的相关指标来评价白酒饮后舒适度,具有片面性。随着现代物质生活水平的提高,人们的健康生活意识不断加强,消费者对各种酒类产品的品质要求也越来越高,其中,饮后舒适度也是消费者越发注重的酒类品质指标。因此,研发一种用于客观、有效的评价饮酒后舒适度的检测方法具有非常重要的意义。

发明内容

[0005] 本发明的目的就是针对当前评价酒类饮后舒适度的客观方法较少,提供一种客观、有效的评价饮酒后舒适度的检测方法,该方法从临床前药理研究方向出发,以药理动物实验(大/小鼠灌胃)为基础研究方法,利用血液渗透压与大/小鼠灌胃饮酒后的机体舒适度的关系,客观考察酒类饮后机体舒适度变化及筛选出饮后舒适度较佳的酒体,从而指导不同酒类产品的品质对比,为白酒等酒产品开发和品质升级提供技术支撑。该方法具有操作简便,客观表达,检测灵敏度高、抗环境干扰能力强等特点,为白酒等酒类饮后舒适度研究方法提供了一个全新的思路。

[0006] 为实现上述目的,本发明是通过以下技术方案实现的:

[0007] 本发明的一种饮酒后舒适度的检测方法,它是通过测量实验动物在灌胃饮酒后不同时间或相同时间的血样本的渗透压,根据渗透压值判断实验动物饮酒后的舒适度变化或

差异,以评价饮用同一种酒后的舒适变化或者对比饮用多种酒后的舒适度差异。

[0008] 进一步地,在本发明较佳实施例中,实验动物灌胃饮用某一种酒后,在血样本渗透压升高的过程中,观察实验动物饮酒后状态呈现短暂兴奋、步态失调、活动减小等直至翻正反射消失等醉酒不适反应,表示实验动物饮酒后机体的舒适度逐渐越低;在血样本渗透压降低的过程中,观察实验动物饮酒后状态呈现翻正反射恢复初期无力、逐渐行动活跃至正常,表示实验动物饮酒后机体的舒适度逐渐恢复至正常。

[0009] 进一步地,在本发明较佳实施例中,各组别实验动物灌胃饮用不同种类酒后,间隔相同时间取血检测血样本渗透压,与正常饮水组比,血样本渗透压升高幅度较大,实验动物状态为翻正反射消失,表示实验动物饮酒后机体的舒适度较差;与正常饮水组比,血样本渗透压升高幅度较小,实验动物状态为短暂步态失调,表示实验动物饮酒后机体的舒适度较好。

[0010] 进一步地,在本发明较佳实施例中,评价某一种酒饮后舒适度的检测方法,具体包括以下步骤:

[0011] 实验方案通过动物实验伦理审查;

[0012] 将实验动物禁食、自由饮水、灌胃饮酒;

[0013] 在饮后不同时间,对实验动物取血,并测量血样本的渗透压;

[0014] 根据实验动物灌胃饮酒后不同时间取血样本的渗透压,判断实验动物饮酒后机体的舒适度变化,以评价一种酒饮后的舒适度变化。实验动物的渗透压值与饮用前比较,渗透压越高,说明饮后舒适度越低。

[0015] 进一步地,在本发明较佳实施例中,评价饮用多种不同白酒舒适度的检测方法,具体包括以下步骤:

[0016] 实验方案通过动物实验伦理审查;

[0017] 将实验动物随机分成若干组,对所有实验动物禁食、自由饮水,分组依次灌胃饮水、饮酒;

[0018] 间隔相同时间,分别对各组的实验动物取血,并测量各组血样本的渗透压;

[0019] 根据实验动物灌胃饮酒后同一时间取血样本的渗透压,判断实验动物饮酒后机体的舒适度差异,以评价饮用不同种类酒后的舒适度差异。实验动物的渗透压值与正常饮水组比较,渗透压升高幅度越大,表示饮后舒适度较低。

[0020] 进一步地,在本发明较佳实施例中,实验动物具有实验动物生产许可证且其使用方法经过单位“动物使用和管理委员会”批准,选用适应性喂养良好的大/小鼠,于灌胃前12-16h,对所有动物禁食、自由饮水。

[0021] 进一步地,在本发明较佳实施例中,实验动物的灌酒体积为0.05-0.20mL/10g.bw。

[0022] 进一步地,在本发明较佳实施例中,评价饮酒后舒适度,大鼠至少6只,不同时间采集血样本,需在灌胃后的至少5h内,每间隔至少0.5h采集。

[0023] 进一步地,在本发明较佳实施例中,评价多种不同酒的饮后舒适度,包括正常饮水组,小鼠至少分为3组,每组至少8只,间隔相同时间采集血样本,需在饮后的2至6h内完成。

[0024] 进一步地,在本发明较佳实施例中,测量血样本的渗透压的方法是:对动物取血后,先将血样本静置10-30min后,以2000-5000r/min离心5-20min,取上层清液,再测量所述上层清液的渗透压。

[0025] 本发明实施例的评价酒类饮后舒适度的检测方法是测量实验动物在灌胃饮酒后不同时间或间隔相同时间取血样本的渗透压,根据渗透压高低,判断饮酒后机体舒适度,此方法可客观而有效的评价酒类饮后舒适度。通过酒类饮后舒适度的药理研究,不断改善酒类产品饮后舒适度,以指导酒类产品质量提升。

具体实施方式

[0026] 为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市售购买获得的常规产品。

[0027] 下面对本发明实施例的一种酒饮后舒适度的检测方法进行具体说明。

[0028] 本实施例提供的一种酒饮后舒适度的检测方法,具体包括以下步骤:

[0029] S1实验动物前处理:实验方案通过动物实验伦理审查;选用适应性喂养良好的大/小鼠,在灌胃前12-16h,对所有实验动物禁食、自由饮水。

[0030] S2分组、灌胃:将动物随机分成若干组,对所有动物灌酒、禁水,灌酒体积一般为0.05-0.20mL/10g.bw。

[0031] S3测量:评价饮用某一种酒后舒适度,在不同的时间,对大鼠采集血液;评价多种不同酒的饮后舒适度,间隔同一时间,对各组小鼠采集血液,并测量样本渗透压。本实施例中,测量血液样本渗透压的方法是:先将样本静置10-30min后,以2000-5000r/min离心5-20min,取上层清液,再测量所述上层清液的渗透压。

[0032] S4数据处理:采用统计学软件分析每组血样本的渗透压,得到每组渗透压均值,该渗透压均值与对比组具有显著差异,一般 $p < 0.05$ 。

[0033] S5结果判断:根据实验动物灌胃饮酒后的血样本的渗透压,判断一种酒饮后的机体舒适度变化及饮用多种白酒后的机体舒适度差异,判断依据是:渗透压越高,机体舒适度越差。

[0034] 酒饮后舒适度主要是指饮后是否上头、是否口干、醒酒快或慢等,研究显示,白酒中主要成分如酒精、醇类等及这些成分在机体中的代谢、分解情况对饮后舒适度的影响较大。一般来说,渗透压反映溶解于溶剂中的分子数量,而血液中的电解质、尿素氮和血糖含量是影响血清渗透压的主要因素,乙醇等醇类小分子化合物大量进入机体则会使血清渗透压升高。

[0035] 通常情况下,动物灌胃或人饮酒后机体的血液渗透压先升高后降低,这是因为大量乙醇及酒体中含有的其他醇类等通过口腔进入机体,再由胃和小肠进入血液,同时不断代谢使得乙醇含量降低并转化生成乙醛、乙酸等其他小分子物质,以上物质的含量变化综合影响着机体的血清渗透压先升高后降低;随着乙醇、乙醛等物质的代谢转化与机体排泄,影响血清渗透压的外来分子数量逐渐减少至动物灌胃或人饮酒前的稳态。因此,本发明实施例通过检测血样本的渗透压值来判断一种酒类的饮后舒适度及其变化。

[0036] 而对于多种不同的酒,由于酒精度数不同,在相同酒摄入量的条件下机体摄入的酒精含量不一样;或酒精度数相同,机体摄入相同的酒精含量,但各种白酒中的醛类、微量成分等小分子含量也各不相同,综合影响机体饮后的乙醇、醛类、微量成分等小分子的代

谢、转化速度不同,进而影响机体的血清渗透压变化。因此,本发明实施例通过检测在实验动物灌胃不同酒后的同一时间的血样本的渗透压值来对比不同酒的饮后舒适度及其差异。

[0037] 上述酒类饮后舒适度的检测方法为白酒等酒类产品开发和品质提升提供技术支持。利用该方法开展大/小鼠动物试验,根据灌胃饮酒后实验动物机体的血清渗透压值来表达饮后舒适程度。

[0038] 本发明是从临床前药理研究方向出发,以药理动物实验(大/小鼠灌胃)为基础研究方法,利用血液渗透压与大/小鼠灌胃饮酒后的机体舒适度的关系,客观考察酒类饮后机体舒适度变化及筛选出饮后舒适度较佳的酒体,从而指导不同酒类产品的品质对比,为白酒等酒产品开发和品质升级提供技术支撑。该方法具有操作简便,客观表达,检测灵敏度高、抗环境干扰能力强等特点,为白酒等酒类饮后舒适度研究方法提供了一个全新的思路。

[0039] 以下结合具体实施例对本发明的特征和性能作进一步的详细描述。

[0040] 实施例1

[0041] 本实施例以42度白酒对大鼠灌胃,提供一种饮酒后舒适度的检测方法,下述实验方案通过动物实验伦理审查,具体包括以下步骤:

[0042] (1) 选用适应性喂养良好的大鼠10只,于灌胃前12-16h,对所有大鼠禁食、自由饮水。

[0043] (2) 对所有大鼠灌胃前取血,用42度白酒灌胃并禁水,记录灌胃时间,灌胃体积为0.08mL/10g.bw。并分别在灌胃后0.5h、1h、2h、4h、6h和8h时,对大鼠眼眶取血,且记录大鼠饮酒后的活跃程度和翻正反射能力。

[0044] (3) 将上述各时间点大鼠的血样本室温静置15min后,以3000r/min离心15min,取上层的血清样本冷冻保存;采用全自动冰点渗透压仪检测血渗透压。

[0045] (4) 采用统计学软件分析检测得到的各组(灌胃前组、灌胃后0.5h组、灌胃后1h组、灌胃后2h组、灌胃后4h组、灌胃后6h组和灌胃后8h组)大鼠的渗透压数据,得到大鼠灌胃白酒后不同时间的血清渗透压,实验结果见下表1。

[0046] 表1大鼠灌胃白酒后不同时间点血清渗透压值

[0047]

序号	组别	渗透压值 (mOsm)
1	灌胃前组	282.18±3.21
2	灌胃后0.5h组	358.25±4.23**
3	灌胃后1h组	378.75±5.10**
4	灌胃后2h组	382.80±3.21**
5	灌胃后4h组	335.10±4.36**
6	灌胃后6h组	303.78±4.91**
7	灌胃后8h组	278.78±6.10

[0048] 注:“**”表示与灌胃前组比较,p<0.05;

[0049] 从表1可以看出,与白酒灌胃前组比较,灌胃后0.5-6h的灌胃组的渗透压值具有不同程度的显著性差异升高,8h的灌胃组渗透压已恢复。且通过观察发现,在灌胃后至0.5h内,所有实验大鼠翻正反射消失,灌胃后4h大鼠开始逐渐恢复翻正反射,灌胃后8h大鼠均恢复正常,主动摄取食物和水。说明血清渗透压与灌胃酒后大鼠的机体舒适度具有明显的相

关性。

[0050] 因此,根据检测大鼠在给予一种白酒灌胃后一段时间内的血清渗透压,客观分析大鼠在该段时间内机体舒适度变化情况,从而评价饮用某种酒后舒适度变化。

[0051] 实施例2

[0052] 本实施例以相同度数42度不同的酒对小鼠灌胃,提供一种饮酒后舒适度的检测方法,下述实验方案通过动物实验伦理审查,其包括以下步骤:

[0053] (1) 选用适应性喂养良好的小鼠,于灌胃前12h,对所有小鼠禁食、自由饮水。

[0054] (2) 将所有小鼠随机分成5组,每组10只,分别为:空白对照组、42度酒精组、42度小荞酒组、42度金荞酒组、42度健康白酒组。对空白对照组给予纯净水灌胃并禁水,对其他组的小鼠分别给予对应的酒进行灌胃并禁水,做好灌胃时间记录,小鼠的灌胃体积为0.145mL/10g.bw。

[0055] (3) 灌胃后观察:除空白对照组小鼠活动正常外,其他灌胃白酒组小鼠灌胃后逐渐翻正反射消失,并记录时间;灌胃后4h左右各组小鼠翻正反射逐渐恢复,并记录时间。统一在规定的灌胃后4.5h,对各组小鼠摘眼球取血。

[0056] (4) 将上述各组小鼠的血样本室温静置15min后,以3500r/min离心10min,取上层的血清样本,冷冻保存;采用全自动冰点渗透压仪检测血清样本的渗透压。

[0057] (5) 采用统计学软件分析检测得到的各组小鼠的渗透压数据,得到小鼠灌胃不同42度白酒产品后同一时间的渗透压值,实验结果见下表2。

[0058] 表2小鼠灌胃不同42度白酒后同一时间血清渗透压

[0059]

序号	小鼠数量(只)	组别	渗透压(mOsm)
1	10	空白对照组	281.10±5.18
2	10	42度酒精组	345.65±4.28**
3	10	42度小荞酒组	328.75±6.10**#
4	10	42度金荞酒组	326.35±5.21**#
5	10	42度健康白酒组	320.10±4.76**##

[0060] 注:“**”表示与空白对照组比较, $p<0.01$;“#”表示与42度酒精组比较, $p<0.05$;“##”表示与42度酒精组比较, $p<0.01$ 。

[0061] 从表2可以看出,与空白对照组比较,灌胃42度的酒精和白酒产品在灌胃后4.5h后小鼠血清渗透压均具有显著性差异,说明灌胃42度白酒4.5h后机体的舒适度还未恢复;与42度酒精组比较,灌胃42度小荞、金荞、健康白酒在4.5h后的渗透压均有不同程度的显著性降低,说明不同白酒产品小鼠灌胃后机体的舒适度明显不同。

[0062] 因此,根据检测小鼠在给予不同42度白酒产品灌胃后同一时间点的血清渗透压,可比较分析小鼠在饮后相同时间的机体舒适度的差异情况,以评价不同白酒的饮后舒适度差异,从而为不同白酒等酒类产品的品质提升研究提供数据支撑。

[0063] 实施例3

[0064] 本实施例以不同度数的酒产品对小鼠灌胃,提供一种饮酒后舒适度的检测方法,下述实验方案通过动物实验伦理审查,其包括以下步骤:

[0065] (1) 选用适应性喂养良好的小鼠,于灌胃前12h,对所有小鼠禁食、自由饮水。

[0066] (2) 将所有小鼠随机分成5组, 每组10只, 分别为: 53度茅台酒组、52度泸州老窖酒组、40度江小白酒组、42度健康白酒1号样组、42度健康白酒2号样组。对各组的小鼠分别给予对应的白酒灌胃并禁水, 做好灌胃时间记录。控制各组小鼠摄入相等的酒精量, 各组小鼠的灌胃体积如下表3。

[0067] 表3

[0068]

组别	酒体度数(%vol)	灌胃体积(mL/10g.bw)
茅台酒组	53	0.115
泸州老窖酒组	52	0.117
江小白酒组	40	0.152
健康白酒1号样	42	0.145
健康白酒2号样	42	0.145

[0069] (3) 灌胃后观察: 各组小鼠灌胃后逐渐翻正反射消失, 并记录时间; 灌胃后4h左右各组小鼠翻正反射逐渐恢复, 并记录时间。统一在规定的灌胃后4h, 对各组小鼠摘眼球取血。

[0070] (4) 将上述各组小鼠的血样本室温静置15min后, 以3500r/min离心10min, 取上层的血清样本, 冷冻保存; 采用全自动冰点渗透压仪检测血清样本的渗透压。

[0071] (5) 采用统计学软件分析检测得到的各组小鼠的渗透压数据, 得到小鼠灌胃不同酒度白酒产品后同一时间的渗透压, 实验结果见下表4。

[0072] 表4小鼠灌胃不同酒度白酒后同一时间血清渗透压

[0073]

序号	小鼠数量(只)	组别	渗透压(mOsm)
1	10	茅台酒组	345.18±7.18
2	10	泸州老窖酒组	362.64±6.18*
3	10	江小白酒组	368.75±6.40**
4	10	健康白酒1号样	330.35±5.21*
5	10	健康白酒2号样	358.10±4.86*

[0074] 注: “*”表示与茅台酒组比较, $p < 0.05$; “**”表示与茅台酒组比较, $p < 0.01$ 。

[0075] 从表4可以看出, 与茅台酒组比较, 灌胃不同酒度的泸州老窖、江小白、及健康白酒2号样, 在灌胃后4h的血清渗透压具有不同程度的显著性升高; 而灌胃健康白酒1号样4h的血清渗透压具有显著性的降低。说明不同酒度白酒产品小鼠灌胃后机体的舒适度明显不同, 其中健康白酒1号样渗透压最低, 即健康白酒1号样饮后舒适度较好。

[0076] 因此, 根据检测小鼠在给予不同酒度白酒产品灌胃后同一时间点的血清渗透压, 可比较分析小鼠在饮后相同时间的机体舒适度的差异情况, 以评价不同酒度白酒的饮后舒适度差异, 从而为不同白酒等酒类产品的品质分析研究提供数据支撑。

[0077] 综上所述, 本发明的一种饮酒后舒适度的检测方法可客观而有效的评价一种或多种酒类饮后的舒适度变化或差异。

[0078] 以上所描述的实施例是本发明一部分实施例, 而不是全部的实施例。本发明的实施例的详细描述并非旨在限制要求保护的本发明的范围, 而是仅仅表示本发明的选定实施

例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明保护的范围。