

# Dynamique des réponses olfactives au cours des deux premières années de la vie: impact des expositions aromatiques précoces et relation avec le comportement alimentaire

Sandra Wagner

#### ▶ To cite this version:

Sandra Wagner. Dynamique des réponses olfactives au cours des deux premières années de la vie : impact des expositions aromatiques précoces et relation avec le comportement alimentaire. Psychologie. Université de Bourgogne, 2013. Français. NNT: 2013DIJOS058. tel-01416063

### HAL Id: tel-01416063 https://theses.hal.science/tel-01416063v1

Submitted on 14 Dec 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

#### UNIVERSITE DE BOURGOGNE

Ecole doctorale Environnement– Santé
UMR Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation

#### THESE DE DOCTORAT

Pour obtenir le grade de : Docteur de l'Université de Bourgogne

Discipline : Science de l'Alimentation

# Présentée par **Sandra WAGNER**

Dynamique des réponses olfactives au cours des deux premières années de la vie : impact des expositions aromatiques précoces et relation avec le comportement alimentaire



Soutenue publiquement à Dijon, le 12 décembre 2013 devant le jury composé de :

Moustafa BENSAFI Directeur de recherches, CNRS, Lyon Rapporteur Frédéric LEVY Directeur de recherches. INRA. Tours Rapporteur Boriana ATANASOVA Maître de conférences, Université de Tours Examinateur Catherine DACREMONT Professeur, Université de Bourgogne Examinateur Sylvie ISSANCHOU Directeur de recherches, INRA, Dijon Directrice de thèse Sandrine MONNERY-PATRIS Chargée de recherches, INRA, Dijon Co-encadrante de thèse











#### REMERCIEMENTS

Par ces quelques lignes, j'aimerais exprimer toute ma gratitude aux personnes qui m'ont accompagné de près ou de loin tout au long de ces 3 années.

Tout d'abord, je remercie les financeurs de cette thèse, le *Conseil Régional de Bourgogne* et le *département AlimH de l'INRA*, qui m'ont permis de mener mon projet dans de bonnes conditions.

Je remercie également *Luc Pénicaud* pour m'avoir permis de réaliser ma thèse au Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation.

Je tiens à remercier chaleureusement mes encadrantes, *Sylvie Issanchou & Sandrine Monnery-Patris*. Merci de m'avoir accompagné jusqu'au bout de cette aventure! Merci aussi pour tous les échanges, toutes les réflexions et discussions qui ont toujours été passionnantes. J'ai beaucoup appris à vos côtés, tant d'un point de vue scientifique que personnel. Merci également de vous être toujours rendu disponible pour moi, parfois même jusqu'à point d'heure, pour m'apporter une réponse ou parfois juste pour apaiser mes doutes.

Je tiens à exprimer ma gratitude aux rapporteurs et examinateurs de mon travail de thèse, Moustafa Bensafi, Frédéric Levy, Boriana Atanasova & Catherine Dacremont pour avoir évalué mon travail et pour les échanges intéressants que nous avons pu avoir malgré les conditions « épiques » de la soutenance.

Je voudrais témoigner ma reconnaissance aux membres du comité de suivi de mon travail de thèse, *Benoist Schaal, Natalie Rigal, Sophie Nicklaus, Christine Lange & Vincent Boggio* pour avoir suivi l'avancée de mon travail et su me faire part de conseils bien avisés.

Je remercie également toute l'équipe OPALINE pour tous les échanges que l'on a pu avoir, en particulier *Caroline Laval, Luc Marlier & Pascal Schlich*.

Je remercie vivement tous les expérimentateurs qui ont permis l'acquisition des données « olfactives », Annabelle Vincent, Alexandra Fornerol, Rania Bouhalassa, Emilie Szleper, Jenny Pierard, Céline Gulluscio & Sandrine Jacob, et en particulier Valérie Feyen & Françoise Durey qui ont toujours su m'apporter des conseils et surtout pour m'avoir toujours prêté main forte quand j'en avais besoin. Je remercie également Christophe Martin & Fabienne Bouillot qui m'ont aussi prêté main forte. Je tiens à remercier chaleureusement Juliette Rousselot pour m'avoir accompagné dans l'aventure des tests de seuil bien que semée d'embuches. Merci pour ta curiosité, ta rigueur et ta persévérance.

Je tiens à adresse un grand merci aux participants, les parents et les enfants, de l'étude OPALINE, mais aussi aux enfants, aux instituteurs et aux directeurs des écoles Saint Dominique et Notre Dame de Dijon.

Un grand merci à *Claire Chabanet* pour son aide incalculable! Merci de m'avoir initié à R et surtout merci de m'avoir donné les clés, ou plutôt les codes, pour le dompter. Merci infiniment pour ta patience et ta pédagogie.

Merci aussi à *Anne Tromelin* et *Karine Gourrat* pour la précieuse aide que vous m'avez apporté dans l'exploration des bases de données chimiques des composés volatils.

Un grand merci à *Thierry Thomas-Danguin* pour m'avoir donné des conseils quant aux tests de seuil et surtout pour m'avoir fournit une aide précieuse le jour J pour la visioconférence!

Merci à *Jacques Maratray & Michael Mazeron* pour leur soutien informatique oh combien précieux ! *Jacques*, un grand merci de m'avoir fait découvrir l'origine des serfs et m'avoir initié à The voice !

Merci à toutes les personnes de l'équipe 8 pour les échanges instructifs, sympathiques et parfois dexteresques que l'on a pu avoir !

Merci aussi à toutes les personnes que j'ai pu côtoyer tout au long de ces 3 années qui ont agrémenté mon travail de thèse de gaieté et de bienveillance.

Un énorme merci à *Élise Cellier-Holzem* qui m'a permis de faire partie de la joyeuse aventure Expérimentarium. Merci pour cette passion que tu partages avec nous à chaque fois! L'Expérimentarium a été pour moi une expérience très enrichissante et épanouissante.

Un immense merci aux thésards de l'équipe 8 Marie Gaillet, Eloise Remy, Camille Divert & Wen-lun Yuan. Merci pour tous les moments agréables que l'on a pu passer ensemble, mais aussi pour les passions comme les jeux de sociétés que l'on a pu partager au long de ces années. Et surtout un grand merci pour avoir été là en cette fin de thèse!

Un merci infini aux Sweet Girls.

Rana Mounayar, merci pour tous les moments plus qu'agréables que nous avons partagés au détour d'après-midi thé gourmand, de moments spa, ou encore en découvrant de nouvelles villes. Merci pour ta joie de vivre, et surtout merci pour ta présence dans les moments moins joyeux!

Sophie Campomizzi, merci pour tous les moments qu'on a partagé, tous les thés et chocolats gourmands qu'on a testé, toutes les aprem girly, toutes les soirées dé masqué et toutes les discussions captivantes que l'on a pu avoir parfois jusqu'au bout de la nuit! Un merci infini pour tes conseils toujours avisés, merci tout simplement d'être là pour moi.

Un grand merci aussi à *Charfedinne Ayed*. Merci pour toutes les discussions passionnantes que l'on a pu avoir, les conseils toujours pertinents dont tu as su me faire part. Merci de m'avoir épaulé jusqu'au bout que ce soit en écoutant inlassablement ma présentation ou en me fournissant juste du chocolat!

Un merci particulier à mes amis de Moselle, *Virginie, Adélaïde & Jeremy* pour tous les encouragements dont vous m'avez fait part, pour toutes nos retrouvailles oh combien émotionnelles à chaque fois, malgré qu'elles aient été si peu nombreuses ces derniers mois. Mais cela va changer à partir d'aujourd'hui!

Un merci aussi à mes co-voitureurs, *Pauline & Cédric*, d'avoir agrémenté les trajets entre Nancy et Dijon et pour toutes les discussions plus que passionnantes que nous avons pu avoir qui ont fait que les trajets paraissaient toujours trop courts...

Le plus grand des mercis va à mes parents sans qui je n'aurais pas pu réaliser ce rêve. Merci pour votre soutien inconditionnel et surtout pour tous les allers-retours que vous avez fait juste pour m'apaiser!

### Table des matières

REMERCIEMENTS LISTE DES TABLEAUX LISTE DES FIGURES LISTE DES ANNEXES

А١	/ANT-PROPOS	1
CH	HAPITRE 1 : INTRODUCTION	8
1	DEVELOPPEMENT DU SYSTEME OLFACTIF ET DES CAPACITES OLFACTIVES CHEZ LE NOURRISSON ET LE JEUNE ENFANT	q
Τ.	1.1. Mise en place et développement du système olfactif	
	1.2. Comment investiguer les capacités olfactives chez l'enfant ?	
	1.3. Capacité olfactive chez l'enfant et impact des odeurs sur son comportement	
2	IMPACT DES EXPOSITIONS AROMATIQUES PRECOCES SUR LES REPONSES SENSORIELLES ET LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE.	
۷.	2.1. Période prénatale	
	2.2. Période prenatale	
	2.2.1. Cas de l'allaitement maternel	
	2.2.2. Cas de l'allaitement au lait infantile	
	2.3. Période de diversification alimentaire et au-delà	
3.	LIEN ENTRE REPONSES SENSORIELLES ET COMPORTEMENT ALIMENTAIRE	
	3.1. Rôle physiologique des odeurs : préparation de l'organisme à l'ingestion d'aliments	
	3.2. Rôle des réponses sensorielles sur l'appréciation alimentaire	
	3.3. Modulation des réponses sensorielles par des facteurs tempéramentaux	
4.	OBJECTIFS	
	IAPITRE 2 : METHODOLOGIE DES TESTS OLFACTIFS ET DES OUTILS DE MESURE DU COMPORTEMENT	
	IMENTAIRE	47
	RECRUTEMENT ET IMPLICATION DES PARTICIPANTS DANS LA COHORTE OPALINE	
	EVALUATION DES REPONSES OLFACTIVES CHEZ LE NOURRISSON	
۷.	2.1. Sélection des participants des tests olfactifs	
	2.2. Stimuli olfactifs	
	2.3. Procédure	
	2.4. Mesure des variables comportementales	
2	EVALUATION DES CONSOMMATIONS ET APPRECIATION ALIMENTAIRES DE LA MERE ET DU NOURRISSON	
Э.	3.1. Recueil des données relatives au comportement alimentaire de la mère et du nourrisson	
	3.1.1. Suivi alimentaire de la mère durant la grossesse et l'allaitement	
	3.1.2. Suivi alimentaire des nourrissons de la naissance à deux ans	
	3.2. Sélection des aliments porteurs des odorants étudiés	
4.	QUESTIONNAIRE VISANT A EVALUER LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE DU NOURRISSON	
	HAPITRE 3 : LES REPONSES OLFACTIVES AU COURS DES DEUX PREMIERES ANNEES DE VIE	
	IAPITRE 4 : INFLUENCE DES EXPOSITIONS AROMATIQUES PRECOCES SUR LES REPONSES OLFACTIVES	
CH	APITRE 5 : RELATION ENTRE REPONSES OLFACTIVES ET COMPORTEMENT ALIMENTAIRE	106
1.	LIEN ENTRE REPONSES OLFACTIVES A 8 MOIS ET APPRECIATION DES NOUVEAUX ALIMENTS INTRODUITS	107
	1.1. Introduction	107
	1.2. Matériel et méthode	109
	1.3. Résultats	110
	1.4. Discussion	112
	1.5. Conclusion	114
2.	RELATIONS ENTRE REPONSES OLFACTIVES ET APPRECIATION DES ALIMENTS AU COURS DE LA SECONDE ANNEE DE VIE	115
3.	RELATIONS ENTRE REACTIVITE CHIMIOSENSORIELLE ET NEOPHOBIE ALIMENTAIRE	137
CH	IAPITRE 6 : DISCUSSION GENERALE	158
1.	REPONSES OLFACTIVES ET LEURS DYNAMIQUES AU COURS DES DEUX PREMIERES ANNEES DE VIE	159
	1.1 Principaux résultats concernant les réponses alfactives	

	1.2.	Principaux résultats de la dynamique des réponses olfactives	161
2.	INFLUENCE	DES EXPOSITIONS AROMATIQUES PRECOCES SUR LES REPONSES OLFACTIVES	162
3.	RELATION	ENTRE REPONSES OLFACTIVES ET COMPORTEMENT ALIMENTAIRE	165
	3.1.	Relation entre réponses olfactives et appréciation des aliments	165
	<i>3.2.</i>	Relation entre réactivité chimiosensorielle et néophobie alimentaire	168
4.	LIMITES		169
	4.1.	Limites des mesures olfactives	169
	4.2.	Limites des mesures d'appréciation	171
CH	IAPITRE 7	: PERSPECTIVES, CONCLUSIONS ET IMPLICATIONS	173
1.	MIEUX CO	MPRENDRE L'EVOLUTION DES REPONSES OLFACTIVES	174
2.	QUEL SERA	NIT LE ROLE DE L'OLFACTION DANS L'APPRECIATION ALIMENTAIRE CHEZ L'ENFANT PRE-LECTEUR ?	175
	2.1.	Contexte et objectifs	
	2.2.	- · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
3.	« VAINCRE	E » LA NEOPHOBIE ALIMENTAIRE PAR L'EXPOSITION OLFACTIVE	178
4.	QUELS SON	NT LES DETERMINANTS DE LA FORMATION DES PREFERENCES ALIMENTAIRES ?	179
5.	Conclusion	ONS ET IMPLICATIONS	180
RE	FERENCES	BIBLIOGRAPHIQUES	182
A۱	INEXES		198

### Liste des tableaux

Γableau 1. Récapitulatif des études portant sur l'impact de la variation des caractéristiques chimiosensorielles du lait maternel suite à l'ingestion de certains aliments sur le comportement alimentaire de l'enfant	26
Γableau 2. Récapitulatif des études disponibles dans la littérature concernant le lien entre sensibilité olfactive et appréciation ou consommation alimentaire.       3	39
Γableau 3. Caractéristiques des dyades mère/enfant sélectionnées pour cette étude relative au ests olfactifs.       5	1X 50
Γableau 4. Caractéristiques des odorants utilisés lors des tests olfactifs	51
Γableau 5. Scores moyens du panel adulte pour le caractère agréable, l'intensité, le caractère rritant et la typicité des odorants sélectionnés dans l'étude OPALINE.       5	
Γableau 6. Correspondance entre les odorants et aliments porteurs de ces odorants	56
Γableau 7. Corrélations de Kendall entre les scores olfactifs à 8 mois et les scores d'appréciation des aliments nouvellement introduits à 8-10 mois.       11	12
Γableau 8. Odorants et arômes utilisés lors des tests olfactifs	)6

## Liste des figures

Figure 1. Schéma représentant les différents facteurs étudiés dans le cadre de l'étude OPALINE	4
Figure 2. Image illustrant le dispositif à double choix	13
Figure 3. Exemple de réactions faciales observées chez les nouveau-nés de moins de 12 heures suite à la présentation de stimulation olfactive.	17
Figure 4. Exemple d'expressions faciales de nouveau-nés exposés à l'odeur d'anis	23
Figure 5. Schéma représentant les 4 objectifs de ce travail de thèse.	42
Figure 6. Photographie d'un biberon ergonomique sans tétine utilisé lors des tests olfactifs	. 53
Figure 7. Disposition de la salle de tests pour les nourrissons de 8 et 12 mois	54
Figure 8. Photographie illustrant la présentation du biberon à un nourrisson de 8 mois	55
Figure 9. Ordre de présentation des odorants durant les tests olfactifs.	56
Figure 10. Disposition de la salle de tests pour les nourrissons de 22 mois.	56
Figure 11. Extrait d'un carnet de suivi alimentaire rempli par la mère durant la période d'allaitement.	62
Figure 12. Exemple d'un carnet alimentaire où les parents rapportaient la consommation alimentaire de leur enfant.	63
Figure 13. Exemple d'un cahier de diversification alimentaire où les parents rapportaient le premières réactions aux aliments nouveaux introduits à leurs enfants.	
Figure 14. Extrait du questionnaire donné aux parents à partir de 15 mois.	64
Figure 15. Questionnaire visant à évaluer le comportement alimentaire de l'enfant	67
Figure 16. Distribution des scores d'appréciation pour chaque catégorie d'aliments nouvellement introduits durant la période 8-10 mois	. 111
Figure 17. Modèle permettant de tester le poids respectif des volets cognitifs et sensoriels l'appréciation et la consommation alimentaire.	
Figure 18. Echelle visant à évaluer l'appréciation des enfants « Face enfant »	. 209
Figure 19. Echelle visant à évaluer l'appréciation des enfants « Face expérimentateur »	. 209

### Liste des annexes

Annexe 1. Synthèse des composés volatils retrouvés dans le lait maternel.	199
Annexe 2. Méthodologie utilisée lors de l'étude exploratoire visant à étudier les liens ent performances olfactives et appréciation/rejet alimentaire, en relation avec les performances linguistiques.	ees
Annexe 3. Résumé de la présentation des résultats portant sur les déterminants influença l'appréciation des légumes présenté au Workshop OPALINE en octobre 2012	



Dans de nombreux pays occidentaux, les enfants consomment trop peu de fruits et de légumes, malgré leurs bénéfices avérés (Dennison et al., 1998; Russell & Worsley, 2007). En revanche, leurs régimes alimentaires comprennent trop de lipides et de sucres simples (Alexy et al., 2002; Volatier, 2000). Ce type de régime alimentaire peut conduire à un surpoids, voire à une obésité. En France, 17,3% des enfants sont en surpoids, parmi lesquels 3,3% sont obèses (Pitrou et al., 2010). L'obésité favorise un grand nombre de pathologies, notamment cardiovasculaires (Ebbeling et al., 2002). De nombreuses études se sont intéressées à l'établissement de recommandations nutritionnelles en espérant promouvoir la consommation des aliments jugés bénéfiques pour la santé et réduire celle d'aliments gras et sucrés. Or, les choix alimentaires des enfants se basent rarement sur les recommandations nutritionnelles et sont principalement guidés par le plaisir sensoriel ressenti lors de la consommation. Selon Cooke & Wardle (2005), « les enfants consomment ce qu'ils aiment ». Les enfants déclarent spontanément que leurs choix alimentaires sont basés sur leurs préférences (Holsten et al., 2012). Il semble alors crucial de comprendre l'origine des préférences alimentaires afin de définir les déterminants des comportements et ainsi promouvoir in fine un comportement alimentaire équilibré. Une étude longitudinale dijonnaise, réalisée dans notre équipe, s'est intéressée aux préférences alimentaires chez l'enfant de 2-3 ans en observant leurs choix alimentaires dans un dispositif de libre-service en cantine. Cette étude a permis de mettre en évidence une grande variabilité des choix des enfants dès l'âge de 2 ans (Nicklaus et al., 2005c). De plus, la variété du répertoire alimentaire à 2-3 ans s'est avérée liée à la variété du répertoire alimentaire durant l'enfance, l'adolescence et le début de l'âge adulte (Nicklaus et al., 2005a; Skinner et al., 2002). Ces études mettent ainsi en lumière le fait que le répertoire alimentaire de l'enfant est déjà en partie formé à l'âge de 2 ans. Cependant, l'origine de la formation de ce répertoire alimentaire reste encore à ce jour peu investiguée. Une autre étude dijonnaise a mis en évidence que le fœtus peut déjà percevoir des arômes in utero et que cette première expérience sensorielle influence les réponses olfactives des nouveau-nés (Schaal et al., 2000). Les expériences sensorielles prénatales (in utero) ou néonatales (durant l'allaitement) peuvent également influencer les réponses d'acceptation des enfants envers des aliments solides (Mennella et al., 2001). Ainsi, les expériences sensorielles précoces pourraient constituer les prémices de la formation du répertoire alimentaire de l'enfant. Si peu

\_

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Selon Birch (1999), au sens strict, le terme « préférence» réfère à la sélection d'un item, ici aliment, par rapport à un autre. Ce terme est à opposer à « appréciation » qui est l'évaluation affective (ou hédonique) d'un aliment basée sur le plaisir ou déplaisir expérimenté (Mela, 2000). Dans cet avant-propos, nous utiliserons le terme « préférences alimentaires » au sens large, c'est-à-dire l'ensemble des aliments appréciés pour introduire notre travail, puis nous nous intéresserons à « l'appréciation » d'aliments particuliers dans la suite de ce manuscrit.

d'études se sont intéressées à l'origine de la formation du répertoire alimentaire, bon nombre d'entre elles ont été conduites auprès d'enfants plus âgés et ont permis de mettre en exergue un certain nombre de déterminants des préférences alimentaires. Parmi ces déterminants, on peut relever les caractéristiques de l'aliment (propriétés organoleptiques et densité énergétique), des facteurs liés à l'enfant tels que leur perception gustative ou olfactive, leur comportement alimentaire, ou des facteurs liés à l'environnement de l'enfant tels que l'influence sociale et les pratiques parentales (Birch, 1999; Nicklaus & Issanchou, 2007; Rigal et al., 2012).

Il n'en demeure pas moins que les facteurs à l'origine des préférences alimentaires restent à ce jour non élucidés, notamment chez les très jeunes enfants. Quels facteurs pourraient être prédominants dans la formation de ces préférences ?

Une étude longitudinale a été mise en place à Dijon visant à comprendre la formation des préférences alimentaires et leurs dynamiques chez l'enfant de moins de deux ans. Cette étude nommée OPALINE (Observatoire des Préférences ALImentaire du Nourrisson et de l'Enfant) a impliqué le suivi d'une cohorte de 319 dyades mères/enfants du 7<sup>ème</sup> mois de grossesse aux 2 ans de l'enfant.

L'étude OPALINE s'est intéressée au rôle des expositions sensorielles précoces des nourrissons (prénatale et néonatale), des réponses sensorielles (gustative et olfactive), de la variété d'aliments introduits lors de la période de diversification alimentaire et enfin le rôle du contexte familial (pratiques éducatives, attitude et personnalité, et caractéristiques socio-économiques) sur les préférences alimentaires du jeune enfant. La figure 1 présente schématiquement les différents facteurs étudiés dans le cadre de l'étude OPALINE.

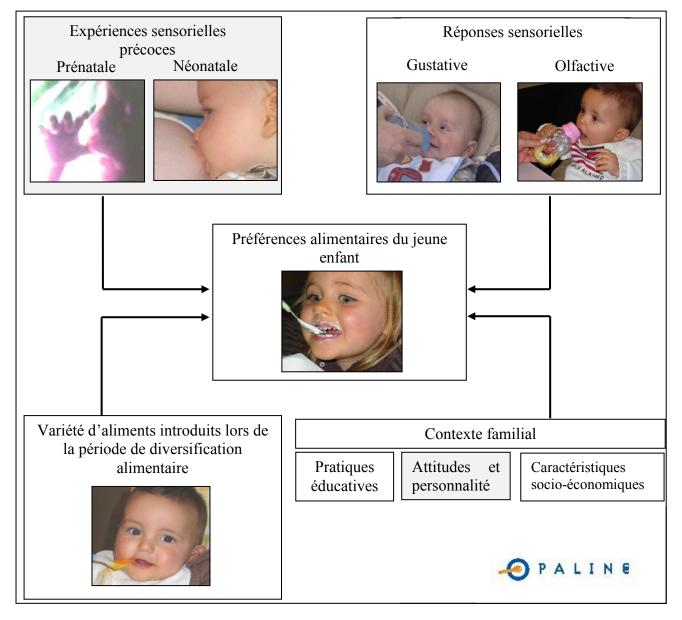


Figure 1. Schéma représentant les différents facteurs étudiés dans le cadre de l'étude OPALINE

Ce travail de doctorat s'inscrit dans le cadre de l'étude OPALINE et s'intéresse plus particulièrement au volet « Réponses sensorielles olfactives ». Les principaux objectifs de ce travail sont, d'une part, d'étudier le rôle de l'olfaction dans la formation des préférences alimentaires et, d'autre part, d'investiguer les modulateurs des réponses olfactives (en couleur grise sur le schéma). Dans le présent travail, nous nous sommes focalisés sur la période de la prime enfance (1 à 24 mois). Cette période est particulièrement intéressante du fait qu'elle recouvre trois phases importantes dans l'évolution des préférences alimentaires : la période de diversification alimentaire (8 mois), la période de transition d'aliments dits « bébés » à des aliments dits « adultes » (12 mois) et la période de restriction du répertoire alimentaire et

d'apparition de la néophobie, qui est définie comme la réticence à goûter ou le rejet de tout nouvel aliment<sup>2</sup> (22 mois).

Ce manuscrit s'articule autour de 7 chapitres. Dans un premier chapitre, nous présenterons une revue de la littérature et introduirons nos questions de recherche. Dans un second chapitre, nous décrirons la méthodologie utilisée pour la réalisation de ce travail. Dans un troisième chapitre, nous aborderons l'étude des réponses sensorielles olfactives au cours des deux premières années de la vie (article 1). Dans un quatrième chapitre, nous examinerons les liens entre les expositions aromatiques précoces et les réponses sensorielles (article 2). Puis, dans un cinquième chapitre, nous étudierons les liens entre réponses sensorielles et comportement alimentaire. Plus spécifiquement, ce chapitre traitera des liens entre réponses olfactives et appréciation alimentaire (article 3), ainsi que des liens entre réponses sensorielles et néophobie alimentaire (article 4). Enfin, dans le chapitre 6, nous synthétiserons et discuterons l'ensemble des résultats obtenus avant d'apporter une ouverture sur ces travaux de recherche (chapitre 7).

\_

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Le lecteur peut se référer à la page 33 de ce manuscrit pour une description plus précise de la néophobie alimentaire

#### VALORISATIONS ISSUES DE CE TRAVAIL DE DOCTORAT

#### Articles parus dans des revues à comité de lecture

<u>Wagner S.</u>, Issanchou S., Chabanet C., Marlier L., Schaal B., Monnery-Patris S. (2013). Infants' hedonic responsiveness to food odours: a longitudinal study during and after weaning (8, 12 and 22 months), *Flavour*, 2:19. (article 1, chapitre 3)

#### Articles en préparation pour des revues à comité de lecture

<u>Wagner S.</u>, Issanchou S., Chabanet C., Lange C., Schaal, B., Monnery-Patris S. (en préparation – *Pediatrics*). Liking of food odors in infants: influence of previous sensory exposures. (article 2, chapitre 4)

<u>Wagner S.</u>, Issanchou S., Chabanet C., Lange C., Schaal, B., Monnery-Patris S. (en préparation - *Appetite*). Liking the odour, liking the food: The appreciation of strongly flavoured foods' correlates with liking of their odour in toddlers. (article 3, chapitre 5)

Monnery-Patris S., <u>Wagner S.</u>, Rigal, N., Chabanet C., Issanchou S., Nicklaus S. (en préparation – *Appetite*). Links between chemosensory reactivity and food neophobia in young children: impact of smell, but not of taste. (article 4, chapitre 5)

#### Autre production écrite

Monnery-Patris S., <u>Wagner S.</u>, Rouby C., Mouly A.-M. (2013). L'odorat vieillit, lui aussi. *Biofutur*,  $n^{\circ}346$  (septembre 2013).

#### Communications affichées

<u>Wagner S.\*</u>, Issanchou S., Chabanet C., Schaal B., Marlier L., Monnery-Patris S.: Le nourrisson face aux odeurs alimentaires. In **17**<sup>ème</sup> **Forum des Jeunes Chercheur**, Dijon, France, 16-17 juin 2011.

<u>Wagner S.\*</u>, Issanchou S., Chabanet C., Schaal B., Marlier L., Monnery-Patris S.: Réaction hédonique vis-à-vis d'odeurs alimentaires chez le nourrisson. In **CRAN** (Collectif régional autour de la nutrition), Dijon, France, 17 mai 2011.

#### **Communications orales**

<u>Wagner S.</u>\*, Issanchou S., Chabanet C., Lange C., Monnery-Patris S. Are hedonic responses to food odours linked to food liking in infants at 12 and 22 months? In **10**<sup>th</sup> **Pangborn Sensory Science Symposium**, Rio de Janeiro, Brésil, 12 août 2013.

<u>Wagner S.</u>\*, Issanchou S., Chabanet C., Schaal B., Marlier L., Monnery-Patris S. Olfactory responses: attraction or avoidance of food odours in the first two years of life? In **Workshop OPALINE: Understanding the early development of food preferences and eating behavior in children**, Dijon, France, 19 octobre 2012.

Nicklaus S.\*, Chabanet C., Lange C., Visalli M., Laval C., Schwartz C., <u>Wagner S.</u>, Schlich P., Monnery-Patris S., Rigal N., Schaal B., Marlier L., Boggio V., Issanchou S. Modelling the early determinants of food preferences in the OPALINE cohort. In **Workshop OPALINE: Understanding the early development of food preferences and eating behavior in children**, Dijon, France, 19 octobre 2012.

<u>Wagner S.\*</u>, Issanchou S., Chabanet C., Schaal B., Marlier L., Monnery-Patris S. Comment le nourrisson perçoit-il les odeurs alimentaires ? In **18ème Forum des Jeunes Chercheur**, Besançon, France, 7 septembre 2012.

<u>Wagner S.\*</u>, Issanchou S., Chabanet C., Schaal B., Marlier L., Monnery-Patris S. Hedonic responses to food odours in 1-2 year-old toddlers: a longitudinal study. In **XVI**° **International Symposium on Olfaction and Taste**, Stockholm, Suède, 25 juin 2012.

<u>Wagner S.\*</u>, Issanchou S., Chabanet C., Schaal B., Marlier L., Monnery-Patris S.: Réaction hédonique vis-à-vis d'odeurs alimentaires chez le nourrisson de 8 mois. In **Congrès International VITAGORA**, **goût**, **nutrition**, **santé**, Dijon, France, 23 mars 2011.

#### Communication grand public

Nicklaus S.\*, Lange C.\*, Schwartz C.\*, <u>Wagner S</u>.\*, Monnery-Patris S.\*, Une longue histoire: comment faire aimer les légumes aux enfants?, **Conférence publique: Restitution des résultats OPALINE**, à Dijon, France, le 19 octobre 2012.

# **Chapitre 1**

# Introduction

Ce premier chapitre a pour objectif de faire un état de l'art des connaissances actuelles sur le développement du système olfactif et des capacités olfactives du nourrisson et du jeune enfant, la modulation des réponses olfactives selon les expositions aromatiques précoces, ainsi que l'impact des réponses olfactives sur le comportement alimentaire du jeune enfant.

# 1. Développement du système olfactif et des capacités olfactives chez le nourrisson et le jeune enfant

Le système olfactif se développe très tôt au cours de l'ontogenèse et apparaît fonctionnel dès la naissance de l'enfant. Si les études concernant les capacités olfactives des nouveau-nés sont relativement nombreuses, peu d'études se sont en revanche intéressées à la période de la prime enfance.

#### 1.1. Mise en place et développement du système olfactif

La chimioréception nasale peut être caractérisée, d'une part, par sa complexité dès le niveau le plus périphérique et, d'autre part, par la précocité de son organisation structurale. Dans la cavité nasale humaine, quatre systèmes chimiorécepteurs ont pu être identifiés : le système olfactif primaire ou principal, le système olfactif accessoire ou voméronasal, le système trigéminal et le système terminal. Ces systèmes se développent selon des chronologies variables, mais toutes très précoces au cours de l'ontogenèse (voir (Lecanuet & Schaal, 1996; Marlier *et al.*, 2007; Schaal, 1988; Schaal, 1997) pour revues).

Le système trigéminal est le premier système à se différencier. Ce système est composé de nerfs trigéminaux constituant la V<sup>ème</sup> paire de nerfs crâniens (Trotier *et al.*, 2012). Leurs terminaisons nerveuses innervent l'ensemble de la paroi nasale, en particulier les terminaisons des branches ophtalmique et maxillaire (Marlier *et al.*, 2007). Les terminaisons du nerf sont apparentes chez l'embryon de 4 semaines et semblent répondre à des stimulations tactiles dès 7 à 11 semaines de gestation (Schaal, 1997). Ce système permet, en outre, la détection de composés porteur d'une composante thermique, comme la « fraîcheur » du menthol, ou d'une composante tactile comme le « piquant » de l'ammoniac, ainsi que des composés odorants à de fortes concentrations (Schaal, 1997).

Le système olfactif principal, quant à lui, permet la détection d'odorants à de faibles concentrations. Ce système est localisé au sommet des fosses nasales et est constitué de neurorécepteurs. Des neurorécepteurs ciliés d'apparence mature sont repérables dès la fin du premier trimestre de gestation (Schaal, 1997). Quant aux axones des neurorécepteurs formant les nerfs olfactifs (I<sup>ère</sup> paire de nerfs crâniens), ils sont visibles dès les 7-8<sup>ème</sup> semaines post-conceptionnelles. Ces axones pénètrent dans le bulbe olfactif pour y induire la formation de glomérules olfactifs. La différentiation du bulbe olfactif principal débute vers les 6-8<sup>ème</sup> semaines et prend une structure laminée caractéristique de celle de l'adulte vers 18 semaines (Humphrey, 1940).

Les systèmes accessoire et terminal sont bien moins connus. Le système accessoire se présente sous forme d'invaginations situées de part et d'autre du septum. Ce système semble se développer entre la 8<sup>ème</sup> et la 20<sup>ème</sup> semaine puis semble régresser pour une majorité d'enfants. Toutefois, il apparaît que la dégénérescence de ce système soit variable selon les individus et les études (Meredith, 2001; Smith & Bhatnagar, 2000). Les fonctions de ce système aussi bien chez l'embryon humain que chez l'adulte restent peu connues. En ce qui concerne le système terminal, il est constitué de fibres sensitives qui se distribuent dans les muqueuses respiratoires et olfactives. Son développement serait précoce et se poursuivrait au long de la vie, bien que peu d'informations sont disponibles à ce propos (Marlier *et al.*, 2007).

En sus de la maturation du système olfactif, il apparaît que les bouchons olfactifs obstruant les voies nasales se dissolvent entre la  $16^{\text{ème}}$  et la  $36^{\text{ème}}$  semaine de grossesse. Cette résorption permet le passage du liquide amniotique *via* les voies nasales, ainsi les molécules odorantes peuvent atteindre le système olfactif en maturation (Schaeffer, 1910).

Une telle précocité structurelle des systèmes chimiorécepteurs peut-elle impliquer une précocité fonctionnelle ?

Des études ont permis de mettre en évidence que des nouveau-nés prématurés nés dès la  $28^{\text{ème}}$  semaine de gestation expriment déjà des réponses comportementales (mouvements de succion, ouverture des yeux, augmentation de l'activité motricité faciale ou corporelle) ou physiologiques (augmentation du rythme respiratoire) face à des stimulations olfactives (Marlier *et al.*, 2001; Pihet *et al.*, 1997; Sarnat, 1978). Ainsi, le système olfactif serait suffisamment élaboré dès la  $28^{\text{ème}}$  semaine de gestation pour permettre une détection des odeurs qui engendrent alors des réponses comportementales et physiologiques.

Le système olfactif est le seul système où la neurogenèse est active tout au long de la vie. Des travaux conduits chez l'animal ont permis d'étayer l'étude de la maturation du système olfactif (non développés dans ce manuscrit). Si la fonctionnalité du système olfactif est précoce, il semble que des changements fonctionnels se produisent au cours de la vie, notamment au niveau de l'intégration des informations sensorielles. L'émergence de techniques d'imagerie, telles que les techniques d'imagerie à résonance magnétique fonctionnelle, a rendu possible l'étude de l'activation cérébrale suite à des stimulations olfactives. Il est apparu que le pattern d'activation cérébrale change en fonction de l'âge des participants (Hummel *et al.*, 2012). Ainsi, on peut observer, chez les jeunes adultes, une activation plus importante des zones cérébrales impliquées dans l'intégration cognitive des stimuli olfactifs par rapport aux enfants. Ces résultats semblent suggérer que le système olfactif ainsi que le traitement des informations sensorielles maturent tout au long de l'ontogenèse.

#### 1.2. Comment investiguer les capacités olfactives chez l'enfant?

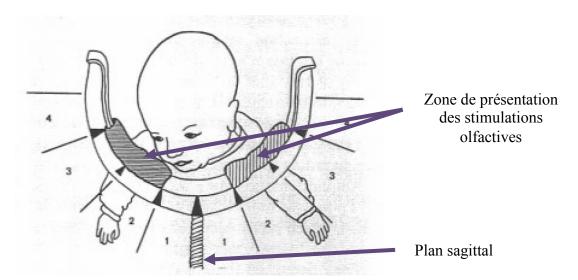
L'olfaction est un sens qui a longtemps été négligé dans l'étude du développement de l'enfant. Ce délaissement était fortement dû au manque d'outils permettant l'évaluation des réponses olfactives chez les enfants. Le XXème siècle a été marqué par l'avènement de méthodologies ingénieuses permettant d'évaluer les capacités olfactives de l'enfant sous l'impulsion des psychologues T. Engen et L.P. Lipsitt. Différentes méthodes sont employées pour mesurer les capacités olfactives des enfants. Ces méthodes varient selon l'âge des participants.

#### Evaluation des capacités olfactives néonatales

Trois méthodes sont fréquemment utilisées pour évaluer les capacités olfactives des nouveau-nés. La première repose sur la mesure d'expression de réponses différentielles à des odorants présentés successivement (Engen *et al.*, 1963; Self *et al.*, 1972). Ce type de méthode repose sur l'observation de la réactivité motrice et faciale. Sachant que certaines odeurs peuvent susciter des réponses du système nerveux autonome, il est également possible d'étudier les réponses physiologiques des nouveau-nés.

L'observation de la réactivité motrice repose sur l'observation de la motricité corporelle telle que les mouvements des jambes (Pihet *et al.*, 1997). La réactivité faciale, quant à elle, peut être mesurée grâce à l'analyse des expressions faciales. Cette analyse peut être réalisée grâce à la version adaptée pour le nourrisson du « *Facial Coding Action* » (Oster & Rosenstein, non publié). En se basant sur l'activité des muscles faciaux, il est possible d'isoler 44 unités d'actions correspondant à un pattern facial spécifique. Les unités d'actions peuvent être associées à des émotions négatives, positives ou neutres. Les unités d'actions interprétées comme révélatrices d'émotions négatives sont, par exemple, le froncement du nez, l'abaissement des sourcils, tandis que un étirement latéral de la lèvre, par exemple, est une unité d'action interprétée comme révélatrice d'émotions positives (Soussignan *et al.*, 1997). Les réponses physiologiques sont mesurées grâce à la mesure des rythmes cardiaques et/ou rythmes respiratoires (Marlier *et al.*, 2001).

La seconde méthode repose sur un paradigme de double choix mesurant les réponses de préférences entre deux stimulations présentées de manière successive (Cernoch & Porter, 1985; Schaal *et al.*, 1995). Ce paradigme repose sur la mesure des réponses d'orientation de l'enfant dans l'espace (orientation céphalique et activation des mouvements buccaux). La figure 2 présente le dispositif utilisé pour ce type de mesure. Le nouveau-né est installé dans un siège et un dispositif en aluminium en forme de U sert de support pour la présentation des stimulations olfactives à 2 cm du nez de l'enfant. Ce dernier permet la disposition des stimulations olfactives dans des champs angulaires de 20 à 70° par rapport au plan sagittal de l'enfant. Les mouvements d'orientation céphalique des enfants sont filmés et analysés selon quatre secteurs d'orientation définis de part et d'autre du plan sagittal de l'enfant. Deux secteurs correspondent à chacun des stimuli olfactifs, tandis que deux autres ne correspondent à aucune stimulation (Figure 2). Les indices retenus ici sont la fréquence et la durée d'orientation vers l'une ou l'autre des sources odorantes.



**Figure 2.** Image illustrant le dispositif à double choix. Ce dispositif permet la présentation simultanée de deux odeurs (zones grisées). Quatre secteurs d'orientation ont été définis de chaque côté de plan sagittal de l'enfant : les secteurs 2 et 3, correspondant à chacun des stimuli olfactif et les secteurs 1 et 4 n'y correspondant pas. Extrait de Schaal *et al.*, 1995.

La troisième méthode repose sur des techniques d'habituation visant à évaluer les capacités de mémorisation (Balogh & Porter, 1986; Davis & Porter, 1991). Ce type de méthode consiste à exposer les nouveau-nés à une odeur spécifique pendant un certain laps de temps et à évaluer leurs réponses olfactives face à l'odeur à laquelle ils ont été habitués et une odeur nouvelle. Par exemple, l'étude de Balogh & Porter (1986) a consisté à exposer les nouveau-nés à une odeur de cerise ou gingembre pendant 23 heures. La phase d'habituation est ensuite suivie d'une phase test utilisant l'une des méthodes décrites ci-dessus, par exemple le dispositif de double choix, afin d'évaluer les réponses des nourrissons envers l'odeur à laquelle ils ont été habitués et envers une odeur nouvelle. Une orientation céphalique préférentielle vers l'odeur à laquelle ils ont été exposés indique que les nouveau-né ont perçu et mémorisé l'odeur présentée durant la phase d'habituation.

A partir de la période de diversification alimentaire (entre 4 et 6 mois), les méthodes évoluent et peuvent intégrer l'un des parents dans le dispositif (Nicklaus & Monnery-Patris, 2003).

Evaluation des capacités olfactives au cours de la prime enfance et au-délà

A partir de la période de diversification alimentaire, l'étude des capacités olfactives devient plus difficile du fait d'une activité motrice croissante conférant aux enfants une plus grande autonomie. De plus, l'enfant est plus susceptible d'être distrait par la présence de personnes non familières par exemple. De fait, les méthodes utilisées pour les plus jeunes enfants ne sont plus applicables, mis à part l'évaluation des expressions faciales. Néanmoins, les expressions faciales sont difficiles à observer compte tenu de la mobilité, notamment céphalique, des enfants. De plus, une étude a révélé que dans 90% des cas, les nourrissons de 7 mois manifestent des expressions faciales neutres (Mennella & Beauchamp, 1998a). Les méthodologies les plus utilisées pour étudier les capacités olfactives des enfants de 7 à 20 mois reposent alors sur l'étude des comportements exploratoires spontanés envers des objets odorisés ou des objets contrôles (sans odeur). Les variables comportementales telles que la mise en bouche des objets odorisés ou contrôles, leur manipulation ou encore une absence de contact physique sont les plus fréquemment décrites dans la littérature.

Au-delà de 2 ans, il est possible de réaliser des tests d'appréciation en impliquant directement l'enfant. Schmidt & Beauchamp (1988) ont mis en place un dispositif s'appuyant sur des poupées représentant des personnages d'une célèbre émission de télévision pour enfants (*Sesame street*). L'enfant est alors convié à attribuer l'odeur qu'il vient de sentir soit au héros de cette émission (*Big bird*) s'il apprécie l'odeur ou au vilain (*Oscar the Grunch*) s'il n'apprécie pas l'odeur.

Au-delà de 3 ans, la maîtrise progressive du langage rend possible l'évaluation des réponses olfactives impliquant une réponse verbale (Rinck *et al.*, 2011), bien que certaines précautions doivent être prises quant aux tâches et aux questions posées à l'enfant. Jusqu'à 5 ans, les réponses des enfants à un test couramment utilisé chez l'adulte (*Sniffin Stick Test*) se révèlent peu fiables et difficiles à mettre en œuvre conduisant à de nombreuses mesures incomplètes (Hummel *et al.*, 2007). De plus, des précautions doivent être prises quant à la formulation des questions posées. En effet, une question formulée de façon affirmative va engendrer plus de réponses affirmatives que la même question formulée de façon négative (Engen, 1974).

En somme, la plupart des méthodes développées sont centrées sur l'évaluation des capacités olfactives des nouveau-nés et des très jeunes enfants (3-4 ans). Très peu d'études se sont intéressées à la période de la prime enfance (1 mois à 2 ans). Ce fait peut être expliqué par les difficultés d'adaptation méthodologique liées à l'évolution rapide des aptitudes motrices et cognitives des enfants au cours de cette période.

# 1.3. Capacité olfactive chez l'enfant et impact des odeurs sur son comportement

#### Période néonatale

Peu après la naissance, les nouveau-nés de 2 jours sont capables de percevoir et discriminer des odeurs biologiques telle que l'odeur d'un liquide amniotique (Marlier et al., 1998a; Marlier et al., 1998b; Schaal et al., 1995). Placés dans des situations de double-choix, les nouveau-nés de 3 jours se révèlent capables de discriminer l'odeur de leur « propre » liquide amniotique comparé à un liquide amniotique provenant d'une autre parturiente (Schaal et al., 1998). Les nouveau-nés sont également capables de discriminer les odeurs des sécrétions lactées maternelles. Il est intéressant de noter que le colostrum, sécrétion lactée produite dans les 3 jours suivant l'accouchement, et le liquide amniotique semblent posséder des propriétés chimiosensorielles proches (Marlier et al., 1997). En effet, les nouveau-nés de 2 à 4 jours n'expriment pas d'orientation préférentielle envers le liquide amniotique ou le colostrum dans un dispositif à double choix suggérant une continuité sensorielle entre ces deux fluides. En revanche, vers 3 jours (avènement de la lactogenèse), les nourrissons expriment une préférence pour le lait comparé au liquide amniotique. Il semble ainsi que les réponses olfactives du nouveau-né peuvent s'ajuster à la variation des qualités chimiosensorielles des sécrétions lactées lors de la lactogenèse (Marlier et al., 1997). Tout comme pour le liquide amniotique, le nouveau-né est également capable de discriminer l'odeur du lait maternel familier par rapport à un lait maternel non familier (Marlier & Schaal, 1997). Le nouveau-né est également capable de discriminer des odeurs maternelles, telles que les odeurs émanant du sein, du cou ou les odeurs axillaires (Cernoch & Porter, 1985; Delaunay-El Allam, 2007).

Ces éléments suggèrent que le nouveau-né dispose déjà de capacités fines de discrimination quelques jours après la naissance. Ces capacités de discrimination précoces

présentent un avantage adaptatif pour l'enfant. Des études indiquent ainsi que les odeurs biologiques présentes dans l'environnement de l'enfant peuvent servir de repères et guider son comportement. Le fait de masquer ou laver un sein sur les deux, ce qui a pour conséquence de « supprimer » toute odeur, résulte en une orientation préférentielle vers le sein non lavé (Varendi *et al.*, 1994). De plus, il a été montré une activation orale plus importante face au sein odorant, tandis que plus de cris ont été mis en évidence face au sein non odorant (Doucet *et al.*, 2007). Une autre étude a montré de manière originale, en plaçant un coton porteur de l'odeur du sein à 17 cm du nez du nouveau-né, que le nouveau-né manifestait des mouvements rampants vers ce coton porteur de l'odeur du sein (Varendi & Porter, 2001). Plus important encore, les nouveau-nés expriment des réponses appétitives envers l'odeur du liquide amniotique (Contreras *et al.*, 2013). De plus, le simple fait de présenter l'odeur du lait maternel quelques minutes avant l'allaitement permet d'augmenter l'ingestion de lait par le nouveau-né (Raimbault *et al.*, 2006).

L'enfant est ainsi capable de percevoir et discriminer des odeurs biologiques, mais qu'en est-il pour les odeurs non biologiques ?

Des études ont montré que les nouveau-nés manifestaient des réponses différentielles, en termes d'activité motrice ou de rythme respiratoire, face à des odeurs non biologiques qualitativement distinctes (Engen et al., 1963, Self, 1972). Les résultats de la littérature suggèrent que les réponses différentielles des enfants envers les odeurs non biologiques peuvent être dues à leur qualité ou leur intensité (Engen et al., 1963; Schaal, 1991; Soussignan et al., 1997). L'étude des expressions faciales des nouveau-nés laisse transparaître que les réponses aux odeurs peuvent également être fonction de leur valence hédonique. En effet, la présentation d'odeurs alimentaires, comme la banane ou la vanille, évoque des expressions d'acceptation ou de plaisir chez le nouveau-né de moins de 12 heures tandis que des odeurs de crevette, beurre ou œuf pourri évoquent des expressions faciales de rejet ou de dégoût (Figure 3) (Steiner, 1977; Steiner, 1979). Steiner (1977) fait l'hypothèse de l'existence d'un système de détection de la connotation hédonique des stimulations chimiques. Toutefois, dans son étude, il est possible que la réactivité faciale différentielle était due, en partie au moins, à des différences d'intensité des odorants ou à des réponses trigéminales et pas uniquement à la valence hédonique. Afin de confirmer ou d'infirmer les résultats de Steiner, Soussignan et al. (1997) ont étudié les expressions faciales des nouveau-nés en choisissant des concentrations iso-intenses pour des adultes. Il ressort de cette étude que les nouveau-nés de 3 jours expriment des réponses faciales négatives face aux odeurs d'acide butyrique et de vanilline mais très peu de réponses faciales positives bien que ces deux odeurs ont pourtant été jugées hédoniquement contrastées par des adultes. Toutefois, plus de réponses faciales négatives ont été notées pour l'odeur d'acide butyrique par rapport à l'odeur de vanille. Ces résultats suggèrent que les nouveau-nés sont capables d'exprimer des réponses hédoniques face aux odorants, tout du moins des réponses négatives. Il semblerait que « les processus hédoniques relatifs aux odeurs soient mieux intégrés au pôle négatif qu'au pôle positif de l'espace hédonique » (Schaal et al., 2002).



**Figure 3.** Exemple de réactions faciales observées chez les nouveau-nés de moins de 12 heures suite à la présentation de stimulation olfactive. C : aucune expression faciale caractéristique face à un stimulus non odorant, BA./VA. : expressions d'acceptation, de plaisir face aux odeurs de banane et vanille, FI., BU., R.E. : expressions d'aversion et de dégoût face aux odeurs de crevette, beurre et œuf pourri, respectivement. Extrait de Steiner, 1979.

Les réponses des enfants vis-à-vis des odeurs peuvent également être fonction de la familiarité et de l'expérience. Le fait d'être exposé au parfum de la mère durant les épisodes d'allaitement, à 1 ou 2 semaines de vie, résultent en une orientation préférentielle vers l'odeur

du parfum de la mère comparée à une odeur inconnue lorsque présentée en double choix (Schleidt & Genzel, 1990). Il est également apparu qu'après une exposition de 23 heures à une odeur, les nouveau-nés, en particulier les filles, s'orientent plus longuement vers l'odeur familière par rapport à une odeur non familière (Balogh & Porter, 1986). Toutefois, dans cette étude, l'absence de différence d'orientation céphalique pour les garçons pourrait être due à un biais lié à une intervention chirurgicale (circoncision) peu avant l'étude. On peut se demander si le stress induit par cette intervention n'aurait pas perturbé les capacités d'apprentissage.

Ainsi, il apparaît que le nouveau-né est capable de mémoriser une odeur à court terme, jusqu'à 16-18 jours (Davis & Porter, 1991). La mémorisation d'une odeur rencontrée lors des périodes d'allaitement pourrait perdurer jusqu'aux 21 mois de l'enfant (Delaunay- El Allam *et al.*, 2010).

En somme, ces études montrent que, dès la naissance, le nouveau-né possède des capacités de discrimination olfactive fines et que son système olfactif est relativement plastique permettant à l'enfant de mémoriser des odeurs à plus ou moins long terme.

#### Période de la prime enfance

Comparé au nombre important d'études ciblant la période néonatale, peu de recherches se sont intéressées à la période de la prime enfance (1 à 24 mois). Ceci est probablement dû aux difficultés méthodologiques liées à l'étude des capacités olfactives des enfants de cet âge, comme décrit dans la partie 1.2. Le peu d'études disponibles nous apprend que les enfants de 9 à 15 mois ont des comportements exploratoires différentiels vis-à-vis d'objets porteurs de différentes stimulations olfactives. D'une part, les enfants de 9 mois ont des comportements exploratoires, faciaux et corporels différents selon la nature de la valence hédonique des odeurs (Schmidt, 1990). Les filles de 9 mois manifestent une exploration des objets odorisés plus longue par rapport à des objets contrôles (Schmidt & Beauchamp, 1989). D'autre part, les enfants de 7 à 15 mois manifestent moins de comportements exploratoires (mise en bouche et manipulation) envers les objets contenant une odeur non familière de violette, pourtant jugée agréable par des enfants plus âgés et des adultes, comparé à un objet contrôle sans odeur (Durand *et al.*, 2008). Ces études nous permettent d'entrevoir le fait que les enfants de 9 à 15 mois sont capables de discriminer les odeurs des objets et qu'ils ajustent leur comportement exploratoire en fonction de ces odeurs. Toutefois, le rôle de la valence

hédonique des odeurs sur les réponses olfactives lors de la prime enfance est encore peu exploré.

D'autres études nous permettent de constater que les réponses exploratoires des enfants sont influencées par l'expérience. Les habitudes des mères (consommation d'alcool ou usage de vanille) ont une influence sur le comportement de l'enfant (Mennella & Beauchamp, 1998a). Ainsi, des enfants ayant au moins un parent considéré comme alcoolique vont avoir un comportement de mise en bouche plus important envers l'objet contenant de l'éthanol par rapport à un objet contrôle (sans odeur) ou à un objet contenant de la vanille. Les enfants, dont les mères utilisent fréquemment des produits à base de vanille, passent plus de temps à regarder l'objet contenant de la vanille comparé à un objet sans odeur ou porteur de l'éthanol. Par ailleurs, le fait d'avoir été exposé à l'odeur de camomille durant l'allaitement au sein résulte en une interaction préférentielle avec des objets odorisés à la camomille par rapport à des objets portant une odeur non familière à 7 et à 21 mois (Delaunay- El Allam *et al.*, 2010).

Bien que très peu d'études nous permettent de conclure quant au rôle de la valence hédonique des odeurs sur les réponses olfactives, cette brève synthèse souligne la plasticité des réponses olfactives et l'impact des expériences sur le comportement ultérieur de l'enfant.

Au-delà de la période de prime enfance, un nombre plus important d'études ont été réalisées du fait de contraintes méthodologiques moins fortes. Toutefois, les études concernant l'évaluation des réponses hédoniques des enfants ne permettent pas clairement de trancher sur l'impact de la valence hédonique des odeurs. Des études relativement anciennes tendent à montrer qu'avant l'âge de 5 ans, les enfants expriment peu de réponses d'aversions ou de répulsions envers les odeurs (Peto, 1936; Stein et al., 1958). En revanche, Schmidt & Beauchamp (1988) ont montré que les réponses olfactives, en termes d'attraction et rejet, sont similaires chez l'enfant et l'adulte. Les résultats de Strickland et al. (1988) corroborent ceux de Schmidt et Beauchamp avec des enfants de 3 à 5 ans. Toutefois, ces auteurs notent que les préférences olfactives des enfants de 3 ans sont moins claires que celles des enfants de 4 à 5 ans. Il semblerait que les enfants de 3 ans discriminent mal la valence hédonique des odeurs comparés aux enfants de 4-5 ans. Récemment, une étude a mis en évidence que les enfants de 3 ans catégorisent plus d'odeurs en tant que désagréables qu'agréables. Le nombre d'odeurs catégorisées comme agréables augmentent entre 3 et 5 ans (Rinck et al., 2011). Il semblerait ainsi qu'au-delà de 3 ans, l'enfant commence à mieux discriminer la valence hédonique des odeurs. Rinck et al. (2011) émettent l'hypothèse que ce changement d'appréciation olfactive

serait concomitant à la période de développement du langage et des représentations sémantiques. Par ailleurs, on sait aujourd'hui que des facteurs cognitifs, tels que l'identification ou les représentations sémantiques, peuvent impacter la perception d'une odeur chez l'adulte et chez l'enfant (Bensafi *et al.*, 2007; Herz, 2003; Poncelet *et al.*, 2010). En somme, le langage serait un puissant organisateur de l'appréciation olfactive (Monnery-Patris *et al.*, 2009; Rinck *et al.*, 2011).

En résumé, dès la naissance, les enfants ont des capacités de discriminations fines envers des odeurs biologiques et non biologiques. Les expériences préalables avec des odeurs non biologiques résultent en une mémorisation de celles-ci et peuvent influencer les réponses olfactives ultérieures des enfants, traduisant ainsi une plasticité du système olfactif. D'après les données de la littérature, il est difficile de conclure quant aux réponses hédoniques des enfants vis-à-vis des odeurs. Toutefois, il apparaît que les réponses hédoniques des enfants envers diverses odeurs évoluent sous l'impact de facteurs cognitifs, tel que le développement du langage.

# 2. Impact des expositions aromatiques précoces sur les réponses sensorielles et le comportement alimentaire

Comme nous venons de le voir, la familiarité et l'expérience avec les odeurs sont importantes et peuvent influencer les réponses olfactives ultérieures. Dans cette partie, nous allons nous intéresser aux expériences sensorielles précoces au cours de l'ontogenèse et à leur impact sur les comportements ultérieurs de l'enfant.

### 2.1. Période prénatale

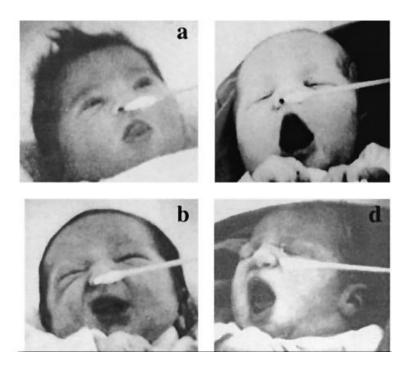
La vie *in utero* permet déjà aux nouveau-nés d'acquérir les premiers éléments d'un lexique olfactif et gustatif. A partir du moment où les bouchons obstruant les narines se sont résorbés (Schaffer, 1910), le fœtus peut inhaler le liquide amniotique stimulant ses récepteurs olfactifs. Il peut également avaler du liquide amniotique (Pritchard, 1966). La quantité avalée

dépend de la taille fœtale et de la durée de gestation. Ainsi, un fœtus de 16 semaines de gestation avale environ 7mL de liquide amniotique sur 24 heures, tandis qu'un fœtus de 28 semaines de gestation en avale environ 120mL sur 24 heures (Pritchard, 1966).

Une étude a relaté pour la première fois, en 1985, que le liquide amniotique pouvait présenter des caractéristiques sensorielles particulières et impacter l'odeur corporelle de l'enfant à la naissance (Hauser et al., 1985). Dans un des cas relatés, le liquide amniotique a été rapporté comme ayant une couleur jaune et ayant une odeur particulière. Le nouveau-né avait une coloration jaunâtre de la peau et une odeur particulière. Suite à ces observations et à un entretien avec la mère, il s'est avéré que la mère avait consommé des plats épicés à base de curry avant l'accouchement. Une décennie plus tard, ces observations ont été confirmées par une étude ayant testé si l'ingestion de capsules contenant des extraits d'ail pouvait imprégner le liquide amniotique au cours du second trimestre de grossesse (Mennella et al., 1995). Pour ce faire, il a été demandé à un groupe expérimental de femmes enceintes de consommer des capsules contenant des extraits d'ail 45 minutes avant de pratiquer une amniocentèse, tandis qu'un groupe contrôle de femmes enceintes ingérait des capsules placebo. Un test par paire a ensuite été réalisé avec un panel entraîné d'adulte afin de comparer les odeurs des échantillons de liquide amniotique, un provenant du groupe des mères ayant consommé des capsules d'ail et un provenant du groupe des mères ayant consommé des capsules placebo. Les liquides amniotiques provenant des femmes ayant consommé des capsules d'ail ont été jugés comme ayant une odeur plus prononcée ou ressemblant à une odeur d'ail comparés aux liquides amniotiques provenant de femmes ayant consommé des capsules placebo. Ainsi, les composés d'arômes, provenant de l'alimentation de la mère, peuvent passer la barrière placentaire et parfumer le liquide amniotique.

Après la naissance, le nouveau-né est capable de discriminer des arômes spécifiques auxquels il a été exposé *in utero*. Une étude s'est intéressée aux aliments contenant de l'ail (Hepper, 1995). Elle a porté sur les enfants nés de femmes ayant consommé ou non des aliments contenant de l'ail durant leur dernier trimestre de grossesse. Un dispositif de double choix a permis de mettre en évidence que 15 à 24 heures après la naissance, les enfants nés de mères ayant consommé régulièrement des aliments contenant de l'ail s'orientent préférentiellement vers un coton-tige imprégné de l'odeur de l'ail par rapport aux enfants nés de mères n'en ayant pas consommé. Il apparaît également que la consommation d'alcool durant la grossesse a un impact sur les réponses motrices du corps et de la tête du nouveau-né (Faas *et al.*, 2000). En effet, les nouveau-nés dont les mères ont consommé fréquemment de

l'alcool durant la grossesse manifestent des réactivités motrices accrues face à l'odeur d'éthanol par rapport aux nouveau-nés non exposés à l'alcool in utero. Une autre étude s'est intéressée à l'impact de la consommation spécifique d'anis au cours de la grossesse (Schaal et al., 2000). Dans cette étude, un groupe expérimental (consommation d'anis) et un groupe contrôle (pas de consommation d'anis) ont été constitués. Les mères du groupe expérimental ont consommé des produits à bases d'anis (bonbons, cookies et sirop) pendant les 15 derniers jours de leur grossesse. Peu après la naissance, une odeur d'anis a été présentée aux nouveaunés âgés alors de 0,5 à 8 heures et leurs réponses envers l'odeur d'anis ont été étudiées en termes de réactivité faciale et d'orientation céphalique. L'étude de la réactivité faciale a révélé que les nouveau-nés n'ayant pas été exposés à l'odeur d'anis in utero exprimaient plus fréquemment des réponses faciales négatives que les enfants ayant été exposés in utero (Figure 4). Il a également été observé que les enfants du groupe expérimental ont manifesté des réponses buccales, c'est-à-dire des mouvements de succion ou de léchage, plus longues vis-à-vis de l'odeur d'anis que les enfants du groupe contrôle. L'étude des préférences envers l'odeur d'anis, via un dispositif à double choix, a mis en exergue que les nouveau-nés du groupe expérimental ont orienté préférentiellement leur tête vers l'odeur d'anis comparé aux nouveau-nés du groupe contrôle. Ces derniers ont manifesté une orientation préférentielle envers le stimulus contrôle comparé à l'odeur d'anis. Ainsi, le nouveau-né est capable de discriminer l'odeur d'anis rencontré in utero et d'exprimer des préférences envers cette odeur à la naissance. Ces effets sur l'orientation céphalique ont également été retrouvés quatre jours après la cessation de l'exposition, suggérant une rétention, au moins à court terme, de l'information chimiosensorielle rencontrée in utero.



**Figure 4.** Exemple d'expressions faciales de nouveau-nés exposés à l'odeur d'anis. a : nouveau-né de 3h exprimant des expressions faciales positives, b à d : nouveau-nés du groupe contrôle de 0,5 à 8h exprimant des expressions faciales négatives. Extrait de Schaal *et al.*, 2000.

La rétention des informations chimiosensorielles semble également se produire sur un plus long terme, au moins jusqu'à la période de diversification alimentaire, voire jusqu'à l'âge de 8-9 ans. Il a été démontré que la consommation durant le dernier trimestre de grossesse de 300mL de jus de carotte, à raison de 4 jours par semaines pendant 3 semaines, peut influencer l'acceptation alimentaire de l'enfant durant la période de diversification alimentaire (Mennella et al., 2001). Ainsi, les enfants qui ont été exposés à la flaveur de carotte in utero manifestent moins de réponses faciales négatives en consommant des céréales préparées avec du jus de carottes comparés au groupe contrôle. Les mères du groupe expérimental ont noté que leurs enfants avaient un plaisir plus important à consommer des céréales avec jus de carotte que des céréales à l'eau. En revanche, les mères du groupe contrôle ont noté un plaisir équivalent chez leurs enfants à consommer les deux produits. Seule une étude récente a mis en avant un effet au-delà de la période de diversification (Hepper et al., 2013). Ces auteurs ont montré que la consommation hebdomadaire de 3-4 mets contenant de l'ail frais durant le dernier mois de grossesse peut impacter la consommation alimentaire des enfants de 8-9 ans. En effet, les enfants pré-exposés à l'ail in utero ont consommé, lors d'un test mené par ces auteurs, plus de gratins de pomme de terre contenant de l'ail par rapport à des enfants non exposés.

Ainsi, le fœtus baigne dans un environnement sensoriel qui est continuellement modifié par les arômes provenant de l'alimentation de la mère et renouvelé grâce aux fréquentes inhalations et ingestions (Lecanuet & Schaal, 1996). Cet environnement permet au fœtus d'être exposé à différentes stimulations sensorielles qu'il est capable de mémoriser et qui le guideront dans ses réponses olfactives ou alimentaires dès la naissance et jusqu'à la période de diversification alimentaire voire jusqu'à 8-9 ans.

En somme, ces résultats suggèrent que, dès la naissance, les nouveau-nés sont forts d'expériences sensorielles et que ces expositions prénatales influencent les préférences néonatales.

### 2.2. Période périnatale

#### 2.2.1. Cas de l'allaitement maternel

Comme le liquide amniotique, le lait maternel possède des caractéristiques sensorielles provenant de l'alimentation de la mère. En effet, au début des années 1990, des études ont mis en évidence que la flaveur du lait maternel varie selon la consommation alimentaire de la mère (Mennella & Beauchamp, 1991a; Mennella & Beauchamp, 1991b; Mennella & Beauchamp, 1993b; Mennella & Beauchamp, 1999). Bon nombre d'études ont employé des méthodes psychophysiques pour évaluer les variations de qualité sensorielle des laits maternels suite à la consommation de certains aliments. Ces méthodes consistaient en une procédure à double choix demandant à un panel adulte entraîné de comparer l'odeur d'échantillons de laits issus de mères ayant consommé les aliments cibles et de mères n'en ayant pas consommé. Ainsi, suite à la consommation par la mère de capsule de 1,5g d'extrait d'ail, le lait maternel a été jugé comme ayant une odeur plus intense ou ressemblant à de l'ail que le lait maternel issu de mères n'ayant pas consommé d'extrait d'ail (Mennella & Beauchamp, 1991a). La consommation de carotte (Mennella & Beauchamp, 1999), éthanol (Mennella & Beauchamp, 1991b et 1993b), fromages et menthe (étude non publiée rapportée dans Mennella, 1995), ainsi que la consommation de cigarettes (Mennella & Beauchamp, 1998b) ont également été identifiées comme modifiant la flaveur du lait maternel des mères consommatrices de ces produits. L'ingestion de produits pharmaceutiques, tel que le

Soledum<sup>®</sup> contenant de l'eucalyptol (1,8-cineole), résulte aussi en une modification des qualités sensorielles du lait maternel (Kirsch *et al.*, 2012).

Parallèlement, des méthodes analytiques (en particulier la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de masse) ont permis d'étudier plus finement les composés volatils retrouvés dans le lait maternel (Buettner, 2007; Hausner et al., 2008; Shimoda et al., 2000). L'annexe 1 récapitule les molécules volatiles retrouvées dans le lait maternel. Il apparaît que les classes majeures de composés identifiées sont : les aldéhydes et les cétones. Les acides, les alcools, les terpènes, les alcanes et les lactones ont également été retrouvés (Buettner, 2007; Hausner et al., 2009; Shimoda et al., 2000). La présence de ces composés volatils dans le lait maternel entraîne une variation de ses qualités sensorielles pouvant modifier le comportement du nourrisson durant l'allaitement. La consommation ponctuelle de certains aliments, comme la vanille, juste avant l'allaitement peut engendrer une augmentation de la durée d'allaitement et de la consommation de lait (Mennella & Beauchamp, 1996). En revanche, la consommation de certaines boissons alcoolisées par les mères allaitantes provoque une diminution de la consommation de lait par l'enfant et une diminution du temps d'allaitement jusqu'à 4h après l'ingestion de ces boissons. La consommation alimentaire spécifique de la mère durant l'allaitement peut également avoir un impact sur le comportement alimentaire du nourrisson envers des aliments solides. Le tableau 1 récapitule les études portant sur l'impact de la variation des caractéristiques chimiosensorielles du lait maternel, suite à l'ingestion de certains aliments, sur le comportement alimentaire de l'enfant.

**Tableau 1.** Récapitulatif des études portant sur l'impact de la variation des caractéristiques chimiosensorielles du lait maternel suite à l'ingestion de certains aliments sur le comportement alimentaire de l'enfant.

Aliment	Quantité ingérée	Délai entre consommation et test	Réponses comportementales de l'enfant	Références	
			Consommation de lait maternel		
Ail	Capsule contenant 1.5g d'extrait	Pas de délai (exposition préalable de 0 à 3 jours)	Groupe exposé  - Diminution de la durée allaitement (tendance)	Mennella & Beauchamp, 1993b, 1991b	
			Groupe non exposé  - Augmentation de la durée allaitement - Augmentation du nombre tétée	19900, 19910	
Ethanol	0,3g par kg de poids corporel dilué dans jus d'orange ou dans bière	Pas de délai	Allaitement au sein  - Augmentation du nombre de tétées - Diminution de la consommation - Diminution de la durée allaitement - Augmentation du nombre d'endormissement	Mennella & Beauchamp, 1991a, 1993a	
Vanille	10mL dilué dans du propylène glycol	Pas de délai	<ul> <li>Allaitement au sein</li> <li>Augmentation de la consommation</li> <li>Augmentation de la durée d'allaitement</li> </ul>	Mennella & Beauchamp, 1996	
			Consommation de céréales préparées avec du jus de carottes vs. eau		
Carotte	300mL jus	2 à 3 heures	<ul> <li>Groupe exposé</li> <li>Diminution de la consommation</li> <li>Diminution de la durée de consommation</li> </ul>	Mennella & Beauchamp, 1999	
			Groupe non exposé  - Pas de différence de consommation - Pas de différence de la durée de consommation		

Aliment	Quantité ingérée	Délai entre consommation et test	Réponses comportementales de l'enfant	Références	
		4 mois	Consommation de céréales préparées avec du jus de carottes vs. eau		
Carotte	500mL jus vs. eau (4 fois par semaine pendant 3 semaines)		Groupe expérimental  - Moins d'expressions faciales négatives  - Mères rapportent un plaisir plus important à consommer cet aliment  - Groupe contrôle - Pas de différence d'expressions faciales - Pas de différence de notation de plaisir par la mère	Mennella & Beauchamp, 2001	
			Consommation de purée de pomme de terre au cumin		
Cumin	75g d'houmous contenant du cumin vs. sans ajout sur 28 jours (10 expositions)	3,6 jours	Groupes allaités exposés et non exposés  - Acceptation initiale élevée - Pas d'évolution de l'acceptation après exposition répétée - Groupe non allaité - Acceptation initiale faible - Evolution de l'acceptation après exposition répétée	Hausner <i>et al.</i> , 2010	

Comme indiqué dans le tableau 1, une étude, conduite par Mennella & Beauchamp (1999), a permis de montrer que la consommation, par des mères allaitantes, de 300mL de jus de carottes résulte en une moindre consommation de l'enfant, 2 à 3 heures après l'allaitement, de céréales préparées avec du jus de carotte comparés à des céréales à l'eau. En revanche, les enfants non exposés à la flaveur carotte *via* le lait maternel ont consommé autant de céréales qu'elles soient préparées avec de l'eau ou du jus de carotte. Cette diminution de réponses visà-vis de la flaveur de carotte à laquelle il y a eu une préexposition serait due à un rassasiement

sensoriel spécifique. Ce dernier est défini comme étant une diminution à court terme des préférences pour un aliment consommé récemment. Ces mêmes auteurs ont réalisé une seconde étude en laissant un temps plus important entre la consommation de jus de carotte par les mères et le test avec l'enfant (environ 4 mois). Il était demandé aux mères de consommer 500mL de jus de carotte ou d'eau au cours des deux premiers mois d'allaitement, à raison de 4 fois par semaine pendant 3 semaines. Au moment de la diversification alimentaire, les préférences alimentaires de l'enfant de 6 mois vis-à-vis de céréales préparées avec du jus de carotte étaient testées. Dans ces conditions, les enfants ayant été exposés à la flaveur de carotte via le lait maternel répondaient à la flaveur de carottes avec moins d'expressions faciales négatives que les enfants qui n'avaient pas été exposés préalablement à la flaveur carotte (Mennella et al., 2001). Il semble ainsi que le degré d'acceptation d'une flaveur, à laquelle l'enfant a été exposé via le lait maternel, dépende du temps écoulé entre l'exposition à cette flaveur et le moment du test. A court terme, l'exposition aromatique spécifique via l'allaitement résulte en un rassasiement sensoriel spécifique lorsque les enfants sont exposés à la même flaveur, ce n'est qu'après un délai, sans exposition, que les effets bénéfiques de l'exposition aromatique via l'allaitement sur l'acceptation des aliments sont observés.

Si l'exposition aromatique spécifique influe sur l'acceptation ultérieure d'aliments, il apparaît que le simple fait d'être allaité au sein favorise également l'acceptation de nouveaux aliments. Récemment, une étude a comparé les effets d'une exposition spécifique (à du cumin) durant l'allaitement, les effets d'un allaitement au sein (sans exposition spécifique), ainsi que les effets d'un allaitement avec du lait infantile sur un nouvel aliment (sans exposition spécifique). Il a ainsi été montré que les enfants ayant été allaités au sein avec ou sans exposition spécifique au cumin *via* le lait maternel acceptent plus facilement un aliment nouveau à base de cumin (purée de pomme de terre au cumin) par rapport à des enfants nourris avec du lait infantile (Hausner *et al.*, 2010). Ainsi, bien que l'exposition spécifique améliore l'acceptation ultérieure des aliments, il semble que la variété de flaveurs présentes dans le lait maternel facilite également leur acceptation. D'autres études ont montré que le simple fait d'être allaité au sein peut faciliter l'acceptation d'aliments solides durant la période de transition des aliments lactés à des aliments solides (Forestell & Mennella, 2007; Maier *et al.*, 2008; Sullivan & Birch, 1994).

En somme, nous pouvons distinguer deux types d'effets d'exposition aux arômes *via* le lait maternel : un effet lié à une exposition spécifique à un arôme, et un effet lié à une exposition à une variété aromatique naturellement liée à l'alimentation maternelle. Les procédures expérimentales sont différentes selon le type d'exposition (spécifique *vs.* global)

étudié. Le premier effet serait lié à une familiarisation de l'enfant avec l'arôme. Le second effet serait dû à un effet positif d'exposition à la variété qui conduirait l'enfant à être moins réticent vis-à-vis d'un aliment nouveau. Notons que la plupart des études s'étant intéressées à l'effet spécifique de l'allaitement sur l'acceptation ultérieure d'aliments sont dites « expérimentales », c'est-à-dire que les mères devaient consommer des aliments spécifiques (anis, carotte, ...) à des périodes ciblées (dernières semaines de grossesse, allaitement). Dans le second cas, les mères ne recevaient pas de consigne sur leur consommation et, dans les études, les réponses des enfants allaités étaient comparées à celles d'enfants ayant été nourris avec des formules infantiles.

Aucune recherche n'a directement étudié si l'allaitement devait être proposé durant un laps de temps minimal pour engendrer des effets facilitateurs sur l'acceptation ultérieure des aliments. Dans l'étude de Maier et al. (2008), les enfants constituant le groupe « allaités au sein » étaient ceux ayant une durée d'allaitement supérieure à 30 jours. Dans l'étude de Hausner et al. (2010), les enfants constituant le groupe « allaités au sein » étaient ceux ayant reçu un allaitement maternel exclusif jusqu'à la diversification alimentaire, soit près de 7 mois. Dans les deux études, des effets facilitateurs ont été observés, sans que l'on puisse trancher sur l'existence d'une durée d'allaitement au sein minimale pour observer de tels effets. Récemment, une étude, conduite dans le cadre d'OPALINE, s'est intéressée à l'effet de la durée d'allaitement exclusif sur l'acceptation rapportée de nouveaux aliments introduits à l'enfant au moment de la diversification alimentaire (Lange et al., 2013). Cette étude n'a cependant pas permis de mettre en évidence de lien entre la durée d'allaitement maternel exclusif et l'acceptation de nouveaux aliments au cours des deux premiers mois de la diversification alimentaire (Lange et al., 2013). Les auteurs suggèrent que ce résultat pourrait être lié au fait que les effets bénéfiques de l'allaitement s'atténueraient au cours du processus de diversification. Ces auteurs avancent aussi que l'absence d'effet positif de l'allaitement maternel pourrait être liée à une trop faible durée d'allaitement (durée médiane de 68 jours). Il semblerait ainsi que le simple fait d'être allaité au sein pourrait favoriser l'acceptation des aliments au début de la période de diversification alimentaire. Au-delà de cette période, l'enfant a pu expérimenter différents aliments et diverses flaveurs, et dans ce contexte, les effets bénéfiques de l'allaitement s'estompent (Schwartz et al., 2011a).

Cette brève revue de littérature suggère que l'allaitement maternel est une source chimiosensorielle riche permettant à l'enfant d'expérimenter des stimuli sensoriels. La transmission de flaveurs *via* le lait maternel pourrait servir de « pont » entre les expériences

sensorielles précoces (*in utero*) et les flaveurs des aliments solides, et pourrait servir à ouvrir le répertoire alimentaire de l'enfant *via* la variabilité des flaveurs rencontrées d'un jour à l'autre et même d'une tétée à l'autre. Toutefois, un certain délai semble nécessaire pour observer un effet spécifique positif sur l'acceptation des aliments lors de la période de diversification alimentaire.

Bien que l'organisation mondiale de la santé préconise un allaitement maternel exclusif jusqu'à l'âge de 6 mois (World Health Organisation, 2003), la dernière enquête nationale périnatale réalisée en France révèle que seulement 56.3 % des mères allaitaient exclusivement leurs enfants à quelques jours post-partum (Bonet *et al.*, 2008). Dans ce contexte, l'une des questions soulevées est de savoir quel est l'effet d'un allaitement constitué de lait infantile sur le développement des préférences chimiosensorielles des enfants ?

#### 2.2.2. Cas de l'allaitement au lait infantile

Les enfants allaités exclusivement au sein sont exposés à une grande variété d'expériences chimiosensorielles, tandis que les enfants nourris avec un lait infantile sont exposés à une seule flaveur résultant en une alimentation monotone au plan sensoriel (McDaniel, 1980). Diverses études ont mis en évidence que les enfants nourris au lait infantile accepteraient moins facilement les nouveaux aliments, notamment durant la diversification alimentaire, comparés aux enfants allaités au sein (Hausner et al., 2010; Sullivan & Birch, 1994). La monotonie de flaveur expérimentée par les enfants nourris au lait infantile est d'autant plus exacerbée que l'enfant est nourri avec la même formule infantile tout au long de la période d'allaitement. Bien que les enfants nourris au lait infantile soient exposés à un environnement chimiosensoriel plus monotone, cette expérience précoce peut impacter ses préférences ultérieures selon le type de lait donné à l'enfant. Pour les enfants intolérants aux protéines de lait de vache, les laits infantiles standards sont inadaptés (American Academy of Pediatrics, 1989). Il est préconisé dans ce cas de proposer des hydrolysats de protéines ou des formules à base de protéines de soja. Prenons l'exemple des hydrolysats de protéines qui a suscité un vif intérêt dans la communauté scientifique. Ces hydrolysats sont décrits comme ayant une flaveur désagréable due à des composés volatils soufrés et des composés non volatils amers et acides (Mennella & Beauchamp, 2005; Mennella et al., 2011). Les nourrissons recevant ce type de lait ont été un modèle d'étude intéressant pour investiguer les effets des expositions précoces. Il apparaît que les nourrissons ayant reçu de l'hydrolysat de

protéines consomment moins de purée de brocoli/chou-fleur, caractérisée par la présence de composés volatils soufrés similaire à leur formule infantile, et expriment des réponses faciales négatives lors de la consommation de ces purées par rapport à des enfants ayant reçu des laits infantiles standards (Mennella et al., 2006). Cette observation pourrait être due au fait que le test a été réalisé alors que les enfants consommaient encore des hydrolysats de protéines et résulterait, selon les auteurs, d'un rassasiement sensoriel spécifique, décrit précédemment. Comme nous l'avons vu précédemment un certain délai pourrait être nécessaire pour favoriser l'appréciation d'une flaveur à laquelle l'enfant a été exposé précédemment. L'équipe de Mennella a également testé l'acceptation ultérieure, vers l'âge de 4-5 ans, de jus de pomme additionnés d'acide citrique. Les enfants nourris avec de l'hydrolysat de protéines préférent les jus de pomme les plus acides comparés aux enfants nourris avec des laits infantiles standards (Mennella & Beauchamp, 2002). Une étude menée par Liem & Mennella (2002) a permis de montrer que les enfants nourris, les premiers mois de la vie, avec de l'hydrolysat de protéines préfèrent des jus de pommes acides à 4-5 ans comparés à des enfants de 6-7 ans, ayant reçu le même type de lait infantile. Ce revirement de préférences peut s'expliquer par le fait que les enfants plus âgés ont une expérience plus étendue des aliments et des flaveurs, et ont ainsi pu apprendre le niveau d'acidité « approprié » pour un jus de pomme.

Il a été également montré que la présence de vanille dans les laits infantiles<sup>3</sup> a un impact sur les préférences alimentaires de ketchup vanillé à l'âge adulte (Haller *et al.*, 1999). Les participants, âgés de 12 à 58 ans, ayant été nourris avec du lait infantile vanillé durant leur enfance préfèrent une version vanillée de ketchup, tandis que ceux ayant été allaités au sein préfèrent un ketchup nature. Il semble ainsi que les flaveurs caractéristiques des formules infantiles expérimentées au début de la vie « impriment » les préférences des enfants qui seraient maintenues pour quelques années.

En résumé, les données de la littérature suggèrent que les flaveurs spécifiques rencontrées durant la période périnatale, que ce soit *via* l'allaitement maternel ou *via* les laits infantiles, ont un effet sur l'acceptation ultérieure d'aliments contenant ces flaveurs. Ces données révèlent également que les enfants allaités au sein bénéficient d'une expérience chimiosensorielle riche due à la grande variabilité des composés aromatiques présents dans le lait maternel. Ces expériences précoces leur confèrent un avantage pour l'acceptation ultérieure d'une multitude d'aliments comparés aux enfants nourris au lait infantile dont

<sup>-</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Haller et al., (1999) rapportent qu'au début des années 1990, en Allemagne, les laits infantiles étaient vanillés.

l'alimentation se révèle relativement monotone au plan chimiosensoriel. Toutefois, lors de la diversification alimentaire, les effets bénéfiques d'un allaitement au sein sur l'acceptation des aliments semblent s'estomper au profit d'autres facteurs, telle que l'exposition répétée (Hausner *et al.*, 2010).

#### 2.3. Période de diversification alimentaire et au-delà

La période de diversification alimentaire est une période de grand changement dans l'alimentation du nourrisson. Ce dernier passe d'une alimentation liquide basée sur un seul aliment à une alimentation semi-solide incluant des aliments contenant une multitude de flaveurs. Au cours de cette transition, le nourrisson est amené à rencontrer des aliments nouveaux en termes aromatiques, sapides et texturaux. Des études observationnelles ont permis de mettre en évidence que les mères renoncent rapidement à offrir un aliment nouveau non apprécié à leur enfant, au terme de 1 à 2 expositions en France, 2 à 3 expositions en Allemagne (Maier et al., 2007b), et 3 à 5 expositions aux Etats-Unis (Carruth et al., 2004). Or, les données de la littérature soulignent l'importance des expositions répétées pour favoriser l'acceptation d'aliments par leur enfant. Par exemple, il apparaît qu'après une exposition répétée de 8 jours à des poires, la consommation de ces fruits est plus importante que durant la période initiale (Mennella et al., 2008). Concernant les légumes, après une exposition répétée de 9 jours à des carottes, la consommation de carottes augmente (Gerrish & Mennella, 2001). Toutefois, une exposition répétée à la pomme de terre n'a pas d'impact sur la consommation de carotte (Gerrish & Mennella, 2001). Il apparaît ainsi que l'exposition répétée soit un mécanisme d'apprentissage spécifique à un aliment au sein d'une catégorie et ne se généralise pas aux autres aliments de la même catégorie. Cependant, certains aliments au sein d'une catégorie semblent plus difficiles à promouvoir que d'autres, tel que les haricots verts (Mennella et al., 2008). Si certaines études mettent en évidence un effet bénéfique des expositions répétées aux haricots verts (Forestell & Mennella, 2007; Sullivan & Birch, 1994), d'autres n'ont pu mettre en évidence qu'une tendance à l'augmentation de la consommation de ces légumes après une exposition répétée de 8 jours (Mennella et al., 2008). Les auteurs interprètent cette difficulté de promotion de l'acceptation de ce légume comme étant due à leur goût amer (voir paragraphe suivant).

De manière générale, les expositions répétées semblent conduire à l'acceptation d'aliments initialement non appréciés. Il semble toutefois qu'un minimum de 8 expositions

soient nécessaires pour promouvoir l'acceptation d'un aliment initialement rejeté (Maier *et al.*, 2007a). Cette acceptation persisterait au moins jusqu'aux 9 mois de l'enfant.

Outre l'exposition répétée à un aliment spécifique, il semble également que la variété d'aliments donnés au sein d'une catégorie impacte l'appréciation ultérieure d'aliments nouveaux. L'exposition des nourrissons à une variété de légumes durant 9 jours (petit pois, pomme de terre et courge) augmente leurs acceptations pour la carotte et facilite leurs acceptations de nouveaux aliments, tels que le poulet (Gerrish & Mennella, 2001). Cette observation est également vérifiée si les nourrissons sont exposés à d'autres légumes (artichaut, haricots verts, potiron) pendant 9 jours et serait essentiellement dû à un changement journalier du légume proposé (Maier *et al.*, 2008). Les premières données de la cohorte OPALINE ont mis en évidence que la variété d'aliments offerte à l'enfant au début de la période de diversification alimentaire est associée à une acceptation plus importante des aliments de la plupart des catégories d'aliments (Lange *et al.*, 2013).

Au-delà de la seconde année de vie, la littérature décrit une restriction du répertoire alimentaire, conjointement à l'autonomie croissante de l'enfant (Cashdan, 1994). En effet, à partir de 24 mois, la variété des choix alimentaires des enfants diminue et reste stable jusqu'à 36 mois (Nicklaus et al., 2005c). Cette restriction du répertoire alimentaire est concomitante avec l'apparition de la néophobie et de la sélectivité alimentaire (Cashdan, 1994; Dovey et al., 2008). La néophobie alimentaire est définie comme la réticence à goûter ou le rejet de tout aliment nouveau (Dovey et al., 2008). Elle est également décrite comme un mécanisme de survie avec un avantage évolutif permettant aux enfants d'éviter l'ingestion de produits toxiques au moment où ils deviennent suffisamment mobiles pour considérer, manipuler et consommer un objet de leur environnement direct hors de la surveillance de leur parent. La littérature suggère que la néophobie alimentaire s'accroît en parallèle de l'augmentation de la mobilité de l'enfant et atteint un pic entre 2 et 6 ans (Cashdan, 1994) puis diminue (Hanse, 1994) et devient relativement stable jusqu'à l'âge adulte (Dovey et al., 2008). La sélectivité alimentaire, quant à elle, est distincte de la néophobie alimentaire dans le sens où elle est définie comme la réticence à consommer un nombre important d'aliments familiers (Galloway et al., 2003). Alors que la néophobie est généralement décrite comme un trait de personnalité relativement stable, la sélectivité serait davantage dépendante de facteurs expérientiels.

En résumé, les expositions aromatiques précoces (in utero et via le lait maternel ou infantile) ont une influence sur l'acceptation ultérieure d'aliments. La modulation de

l'appréciation des aliments se poursuit durant la période de diversification alimentaire, renforcée par des stratégies éducatives parentales comme la répétition des expositions ou l'introduction précoce d'une palette d'aliments variés au plan sensoriel. Cependant, peu d'études se sont intéressées à l'influence des expositions chimiosensorielles précoces sur les réponses olfactives. Pourtant, l'olfaction semble avoir un rôle important sur le comportement alimentaire.

# 3. Lien entre réponses sensorielles et comportement alimentaire

Dans cette section, nous aborderons le rôle des réponses sensorielles sur le comportement alimentaire sous deux aspects. Tout d'abord, nous évoquerons le rôle anticipateur des odeurs sur le comportement ingestif, puis l'influence des réponses sensorielles sur l'appréciation ou la consommation des aliments. Enfin, nous nous focaliserons sur la modulation des réponses sensorielles par des facteurs comportementaux.

# 3.1. Rôle physiologique des odeurs : préparation de l'organisme à l'ingestion d'aliments

Il existe un lien étroit entre état interne et réponses olfactives.

D'une part, les stimulations olfactives peuvent modifier l'appétit. En effet, Yeomans (2006) rapporte que l'état de faim des participants augmente après l'exposition à une odeur alimentaire. De plus, il s'avère que certaines odeurs alimentaires peuvent provoquer une réactivité orofaciale, comme le léchage des lèvres, chez l'enfant de 6 à 10 ans, en particulier chez l'enfant en surpoids (Soussignan *et al.*, 2012). En sus de cette relation avec l'appétit, les odeurs semblent également influencer les réponses physiologiques de l'organisme. En effet, sentir une odeur alimentaire peut engendrer une augmentation du flux salivaire (Pangborn *et al.*, 1979). Toutefois, il semble que la stimulation olfactive *per se* n'implique pas nécessairement une modification du flux salivaire, seulement certains odorants, comme le citron pour citer un exemple, aurait cette propriété (Spence, 2011). Certaines odeurs peuvent également moduler la sécrétion d'hormones régulant l'appétit comme la ghréline (Massolt *et al.*, 2010; Mattes, 1997).

D'autre part, les réponses olfactives seraient également liées à d'autres facteurs contrôlant la prise alimentaire telle que la satiété. Les résultats concernant l'effet de l'état interne (faim versus satiété) sur la sensibilité olfactive sont divergents (Albrecht *et al.*, 2009); certains auteurs montrent une baisse de la sensibilité, d'autres une augmentation, et enfin

d'autres ne mettent pas en évidence de différence. Par contre toutes les études convergent sur le fait que le caractère plaisant des odeurs alimentaires diminue entre un état de faim et un état de rassasiement. Ce phénomène est nommé 'alliesthésie' et correspond à la modulation de la valeur de récompense d'un stimulus selon l'état interne (Cabanac, 1971; Jiang *et al.*, 2013; Plailly *et al.*, 2011; Soussignan *et al.*, 1999).

En résumé, les odeurs auraient un rôle sur la physiologie de l'organisme en le préparant à l'ingestion d'aliments et en régulant le comportement ingestif.

## 3.2. Rôle des réponses sensorielles sur l'appréciation alimentaire

L'appréciation des aliments serait en partie due à leurs attributs sensoriels (Nicklaus, 2011). La sensibilité aux composés sapides présents dans les aliments a été étudiée par le passé et des liens ont été mis en évidence entre les saveurs caractéristiques des aliments et leur appréciation. Si nous prenons l'exemple des légumes, il a été montré que l'amertume est un déterminant majeur de leur appréciation (Drewnowski, 1997). De plus, la sensibilité au 6-n-propylthiouracil, un composé amer, a un impact négatif sur la consommation de légumes amers chez l'enfant de 3-4 ans (Bell & Tepper, 2006). Concernant l'acidité, les nourrissons de 18 mois ayant une préférence marquée pour des solutions très acides mangent plus de fruits que ceux qui rejettent ces solutions (Blossfeld *et al.*, 2007). Une relation similaire a été mise en évidence chez les enfants de 9 ans, uniquement pour les garçons (Liem *et al.*, 2006). Une étude réalisée dans le cadre d'OPALINE a mis en évidence que l'acceptation de certaines saveurs est reliée à l'acceptation des aliments porteurs de ces saveurs au début de la diversification alimentaire (Schwartz *et al.*, 2011a). Ainsi, l'acceptation de la saveur sucrée est liée à l'acceptation de fruits sucrés et de desserts ou céréales. L'acceptation de la saveur acide est corrélée positivement avec l'acceptation des fruits acides.

Toutefois, lorsqu'un aliment est consommé, nous percevons sa flaveur qui est la somme des composantes gustative, olfactive et chémesthésique<sup>4</sup>. La composante olfactive semble être particulièrement critique concernant la perception de la flaveur. Il semble que les patients souffrant de distorsions olfactives rapportent également des troubles de la perception de flaveurs (Bonfils *et al.*, 2005). De plus, le masquage de l'arôme d'une crème dessert, grâce

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Le terme chémesthésique renvoie à la perception trigéminale des irritants et de la température des aliments.

à l'utilisation d'un pince-nez, affecte les sensations orales perçues, comme le crémeux, et conduit à une diminution de la quantité de crème ingérée (de Wijk *et al.*, 2004).

Or, peu d'études se sont intéressées au rôle de la sensibilité olfactive sur l'appréciation des aliments et/ou leur consommation. Le peu d'études disponibles dans la littérature sont récapitulées dans le tableau 2. Il a été montré chez l'enfant de 2 à 5 ans qu'une forte sensibilité olfactive et gustative – évaluée par questionnaire – était associée à une faible consommation de fruits et de légumes, ainsi qu'à une faible variété de fruits et légumes consommés (Coulthard & Blissett, 2009). Des études expérimentales ont également été réalisées en vue d'évaluer les liens entre la sensibilité olfactive à des composés volatils spécifiques et l'appréciation ou la consommation des aliments porteurs de ces composés (Engel et al., 2006; Jaeger et al., 2012; Solbu et al., 1990). Il a été montré que des nonconsommateurs de chou-fleur, âgés de 16 à 69 ans, sont plus sensibles que des consommateurs moyens ou forts à l'isothiocyanate d'allyle, un composé en partie responsable de l'odeur du chou-fleur (Engel et al., 2006). Ces dernières années, l'acceptabilité de la viande de porc a suscité un vif intérêt dans la communauté scientifique. En effet, l'Union Européenne voudrait stopper la castration des porcs d'ici 2018 pour des raisons économiques, environnementales et éthiques (Bonneau et al., 2000). Or, cette pratique communément utilisée a pour intérêt de réduire les odeurs de verrat (Font-i-Furnols, 2012). Ces dernières sont des odeurs fortes jugées désagréables, dues à deux molécules particulières l'androsténone et le scatole, se dégageant lors de la cuisson de viande de porc pubère (Font-i-Furnols, 2012). Il a été montré que les consommateurs les plus sensibles à l'androsténone et/ou au scatole avaient une acceptabilité faible des odeurs et des flaveurs de la viande de porcs pubères comparés à des consommateurs moins sensibles (Meier-Dinkel et al., 2012; Weiler et al., 2000). D'autres études ont mis en évidence des différences de notation d'appréciation de l'odeur de la viande en train de cuire entre les consommateurs jugés sensibles et moins sensibles à l'androsténone, mais n'ont pas retrouvé de différences pour la viande prête à être consommée (Lunde et al., 2009). Toutefois, d'autres études n'ont pas retrouvé de différences d'acceptabilité de la viande en lien avec la sensibilité à ces composés (Font-i-Furnols, 2012). Il apparaît aussi que la sensibilité à la triméthylamine, un composé partiellement responsable de l'odeur de poisson, n'est pas corrélée à la consommation de poisson chez des participants de 6 à 16 ans (Solbu et al., 1990).

La majorité des études décrites ci-dessus met en évidence une relation négative entre la sensibilité à une molécule volatile et la consommation ou l'appréciation des aliments contenant ces molécules. Or, une étude récente a démontré le phénomène inverse. Ainsi, il

semblerait que des adultes, âgés de 20 à 50 ans, plus sensibles au cis-3-hexen-1-ol ont tendance à consommer plus fréquemment des concombres et de la salade verte que des personnes moins sensibles (Jaeger *et al.*, 2012). Les auteurs évoquent la possibilité que les participants sensibles puissent percevoir ces légumes comme ayant plus de flaveurs et ainsi en consomment davantage que les participants moins sensibles, pouvant trouver ces légumes fades.

Cette synthèse met en lumière des résultats contrastés sur les liens potentiels entre sensibilité olfactive et la consommation ou l'appréciation de certains aliments. La majorité des études rapportent des relations négatives entre la sensibilité à une molécule volatile et la consommation d'aliments porteurs de cette molécule. Certaines études, en revanche, décrivent des relations positives ou une absence de relation. Il convient de noter que parmi les études présentes dans la littérature, seulement une étude s'est intéressée aux jeunes enfants (Coulthard & Blisset, 2009). Or, la prime enfance est une période où les préférences alimentaires sont essentiellement guidées par les attributs sensoriels des aliments. Ainsi, si les odeurs jouent un rôle prépondérant dans l'acceptation des aliments, ce rôle devrait être observé dès la petite enfance. De plus, les préférences alimentaires sont parties acquises à l'âge de 2 ans et prédictives des préférences alimentaires à l'âge adulte (Nicklaus *et al.*, 2005a; Skinner *et al.*, 2002). Ainsi, pour comprendre la formation des préférences alimentaires et le rôle des odeurs, il apparaît crucial d'évaluer les liens entre réponses olfactives et acceptation des aliments avant 2 ans.

**Tableau 2**. Récapitulatif des études disponibles dans la littérature concernant le lien entre sensibilité olfactive et appréciation ou consommation alimentaires.

Ages	Molécules	Méthode	Aliments	Mesure (questionnaires)	Résultats	Références
2 à 5 ans	-	Questionnaires	Fruits et légumes	Consommation	Sensibilité olfactive et gustative associées à faible consommation de fruits et légumes	Coulthard & Blisset, 2009
6 à 16 ans	Triméthylamine	Test de seuil	Poisson	Appréciation et consommation	Aucune relation	Solbu <i>et al.</i> , 1990
16 à 69 ans	Isothiocyanate d'allyle	Test de seuil	Chou-fleur	Consommation	Sensibilité accrue pour les non consommateurs de chou-fleur	Engel <i>et al.</i> , 2006
Adultes	Androsténone et scatole	Test de seuil	Viande de porc	Appréciation	Sensibilité accrue associée avec une faible acceptabilité de la flaveur	Font-i- furnols, 2012
20 à 50 ans	Cis-3-hexen-1-ol	Test de seuil	Concombre et Salade verte	Consommation	Consommation plus importante pour les plus sensibles	Jaeger et al., 2012

# 3.3. Modulation des réponses sensorielles par des facteurs tempéramentaux

Comme nous l'avons vu dans la partie 2.3 du présent chapitre, la seconde année de vie est marquée par l'apparition de la néophobie alimentaire. La littérature suggère que cette dernière a un impact sur les consommations alimentaires des enfants. En effet, le comportement néophobique influence la qualité nutritionnelle des régimes. Par exemple, les enfants les plus néophobes ont un régime alimentaire peu varié (Nicklaus *et al.*, 2005a) et consomment des légumes en quantité moindre comparés à des enfants peu néophobes (Cooke *et al.*, 2003; Howard *et al.*, 2012).

La seconde année de vie est également marquée par l'apparition de la sélectivité alimentaire. Le comportement sélectif des enfants est également relié à leurs consommations alimentaires. En effet, les enfants les plus sélectifs, notamment les filles, consomment moins de fruits et légumes comparés à des enfants peu sélectifs (Galloway *et al.*, 2003).

Certains auteurs se sont également intéressés au lien pouvant exister entre, d'une part, la sélectivité et la néophobie alimentaires, et, d'autre part, la sensibilité sensorielle des enfants. Il est important de souligner que le peu d'études disponibles ont évalué la sensibilité sensorielle par questionnaire en utilisant le « short sensory profile » (Coulthard & Blissett, 2009; Farrow & Coulthard, 2012). Ce questionnaire anglais, mis au point par Winnie Dunn en 1999, comprend 38 items et permet d'évaluer les réponses sensorielles sur 7 domaines différents dont la sensibilité olfacto-gustative. Soulignons ici que l'évaluation de la sensibilité olfacto-gustative confond les dimensions olfactive et gustative, et inclut même la dimension tactile. Cette évaluation est réalisée via quatre questions : « Avoids tastes or food smells that are typically part of a children's diets », « Will only eat certain tastes », « Limits self to particular food textures/temperatures », « Picky eater, especially regarding food textures ». Les parents devaient répondre à chacune de ces questions avec une échelle à 5 points allant de « always », « frequently », « occasionnally », « seldom », « never ». Grâce à cet outil, il a été mis en évidence que les enfants rapportés comme étant les plus néophobes ont une sensibilité 'olfacto-gustative' plus élevée que les enfants peu néophobes (Coulthard & Blissett, 2009). Les enfants les plus sélectifs ont également une sensibilité 'olfacto-gustative' plus élevée (Farrow & Coulthard, 2012).

De plus, il a été montré que les enfants néophobes ont des comportements exploratoires significativement différents de ceux observés chez les enfants moins néophobes. En outre, les enfants les plus néophobes « sniffent » des boîtes contenant des aliments à une distance plus importante que les enfants moins néophobes (Bunce & Gibson, 2012). Cette dernière étude souligne la méfiance des enfants néophobes envers l'aliment à travers sa composante olfactive.

En résumé, la néophobie et la sélectivité alimentaires sont liées aux réponses sensorielles, bien qu'évaluée par questionnaire, et au comportement alimentaire des enfants. Cependant, les liens entre la réactivité olfactive, évaluée de manière expérimentale, et le comportement alimentaire de l'enfant, en termes de néophobie et de sélectivité alimentaires, restent à ce jour non étudiés, notamment chez le très jeune enfant.

### Que retenir de cette synthèse bibliographique?

Le système olfactif est opérationnel dès le troisième trimestre de grossesse permettant au fœtus d'expérimenter des premières sensations chimiosensorielles. Ainsi, dès la naissance, les capacités olfactives du nourrisson lui permettent de discriminer les diverses odeurs l'environnant et d'exprimer des préférences. Si la période néonatale et l'enfance à partir de 3 ans a été fortement étudiée, la période de la prime enfance a fait l'objet de peu d'études en raison de difficultés méthodologiques liées à l'évaluation des réponses olfactives. De plus, la dynamique des réponses olfactives au cours de la prime enfance reste encore à ce jour non étudiée.

La fonctionnalité précoce du système olfactif permet au fœtus de découvrir des flaveurs *in utero*, qui influenceront ses réponses olfactives et alimentaires dès la naissance et jusqu'à la période de diversification alimentaire, voire même jusqu'à 8-9 ans. Le nourrisson continue d'expérimenter des flaveurs au moment de l'allaitement, *via* les formules infantiles, bien qu'elles soient relativement monotones au plan sensoriel, et/ou *via* le lait maternel qui est caractérisé par une grande richesse aromatique. Cette richesse aromatique favoriserait l'acceptation de nouveaux aliments introduits lors de la période de diversification alimentaire. La littérature suggère également que les deux premières années de la vie constituent une période sensible pour l'apprentissage des flaveurs.

Si le rôle de la composante gustative sur l'acceptation des aliments a été largement étudié par le passé, nous en savons très peu sur le rôle de la composante olfactive sur l'acceptation des aliments, notamment au cours des deux premières de la vie, pourtant une période primordiale dans l'acquisition des préférences alimentaires.

Le comportement alimentaire et les réponses olfactives semblent également être liés à des facteurs tempéramentaux tels que la néophobie ou la sélectivité alimentaires.

### 4. Objectifs

Ce travail de thèse s'est découpé en 4 objectifs schématisés sur la figure 5.

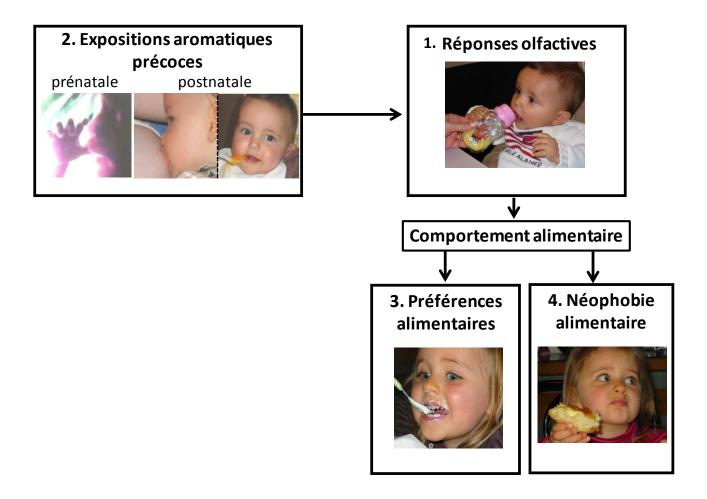


Figure 5. Schéma représentant les 4 objectifs de ce travail de thèse.

Le premier objectif consiste à étudier les réponses olfactives au cours des deux premières années de la vie, ainsi que leur dynamique. Le second objectif porte sur l'étude de l'influence des expositions aromatiques précoces sur les réponses olfactives. Les troisième et quatrième objectifs visent à étudier les relations entre les réponses olfactives et le comportement alimentaire, en s'intéressant, d'une part, à l'appréciation des aliments et, d'autre part, à la néophobie alimentaire.

Ce premier chapitre a permis de faire un état de l'art concernant les capacités olfactives du nourrisson, leur modulation par les expositions précoces ainsi que le rôle des odeurs sur les préférences alimentaires. Nous avons pu voir que peu d'études ont été conduites sur les capacités olfactives des enfants au cours de la prime enfance ainsi que sur leur évolution. De plus, force est de constater que les quelques études présentes dans la littérature n'ont pas permis de déterminer si les réponses olfactives des nourrissons sont fonctions de la valence hédonique des odeurs.

Le premier objectif de ce travail est ainsi de combler le manque de connaissance sur les réponses hédoniques au cours de la prime enfance envers des odeurs alimentaires a priori plaisantes, comme la vanille, et a priori déplaisantes, comme le fromage. La prime enfance est une période recouvrant trois âges clés dans la formation du répertoire alimentaire : 8, 12 et 22 mois. A 8 mois, la majorité des enfants ont débuté la diversification alimentaire (Turberg-Romain et al., 2007). A 12 mois, le répertoire alimentaire du nourrisson passe d'aliments dit « bébés » à des aliments dits « adultes » nommés « table foods » dans la littérature (Briefel et al., 2004; Le Heuzey et al., 2007). Enfin, à 22 mois, deux comportements émergent de façon concomitante : la néophobie et la sélectivité alimentaires (Cashdan, 1994; Dovey et al., 2008; Rigal et al., 2012). Ce travail vise à étudier de manière longitudinale le développement des réponses olfactives parallèlement à la formation du répertoire alimentaire. Au vu des résultats de la littérature, décrits dans la partie 1.3, montrant que les enfants de 2-3 ans ont un pattern de préférences olfactives similaire à celui des adultes. Nous faisons alors l'hypothèse<sup>5</sup> que les nourrissons manifesteraient des réponses olfactives similaires à celles des adultes, et ce de manière plus marquée au fil du temps. Nous nous attendons donc à observer des réponses d'attraction envers des odeurs a priori agréables et des réponses d'évitement envers des odeurs a priori désagréables. L'étude de cette hypothèse fait l'objet du premier article présenté page 69.

<sup>.</sup> 

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Il est important ici de souligner que nos hypothèses sont orientées. Par conséquent, les analyses statistiques réalisées dans les chapitres qui suivent seront réalisées au moyen de tests unilatéraux.

La littérature nous a également permis d'apprécier le fait que les expositions aromatiques précoces, que ce soit *in utero*, durant l'allaitement ou même lors du début de la période de diversification alimentaire, ont une influence sur le comportement alimentaire ultérieur des enfants. Bien que les odeurs jouent un rôle important sur le comportement alimentaire (cf. partie 3 du chapitre 1), peu d'études se sont intéressées à l'influence des expositions précoces sur les réponses olfactives. Les quelques études présentes dans la littérature ont porté principalement sur la période *in utero* et ont montré que les expositions aromatiques précoces ont une influence positive sur les réponses olfactives de l'enfant à la naissance. Il convient de souligner ici que la plupart des études ont été réalisées de manière expérimentale, impliquant la consommation forcée par les mères participantes d'un seul spécifique (exemple : anis dans l'étude de Schaal *et al.*, 2000).

Le second objectif de ce travail est d'étudier, de manière écologique, l'influence de différentes expositions aromatiques précoces d'aliments porteurs d'odeurs agréables ou d'odeurs désagréables sur les réponses olfactives des nourrissons au cours des deux premières années de la vie. Afin d'avoir une vue d'ensemble de l'effet des expositions aromatiques précoces sur les réponses olfactives, nous nous sommes intéressés à un ensemble d'odorants couvrant différentes catégories d'aliments. Contrairement aux études antérieures, notre travail s'est basé sur le recueil des consommations spontanées des mères durant la grossesse et l'allaitement, et de l'enfant durant la période de diversification alimentaire. Bien que peu d'informations soient disponibles dans la littérature, les résultats suggèrent une influence positive des expositions aromatiques précoces sur les réponses olfactives. Notre hypothèse est que les expositions aromatiques précoces ont une influence positive sur les réponses olfactives ultérieures. L'étude de cette hypothèse fait l'objet du second article, présenté page 85.

L'état des lieux de la littérature nous amène à constater que la sensibilité olfactive pourrait avoir un impact sur l'appréciation ou la consommation des aliments chez l'adulte. Toutefois, les études n'aboutissent pas toutes à la même conclusion. Comme indiqué dans le tableau récapitulatif page 39 certaines études évoquent une relation négative entre la sensibilité à un composé volatil et la consommation ou l'appréciation de l'aliment

correspondant, une autre montre une relation positive et une autre n'a pas permis de mettre en évidence de relation. Concernant la période de la petite enfance, seulement une étude s'est intéressée, par le biais de questionnaires, au rôle des réponses olfactives sur la consommation alimentaire et a mis en évidence une relation entre la sensibilité olfactive et la consommation de fruits et légumes. La majorité des études se sont intéressées à la sensibilité olfactive. Outre la sensibilité olfactive, il serait intéressant de prendre en compte l'étude des réponses hédoniques aux odeurs et dans ce cadre la question soulevée serait de savoir quelle serait la relation entre les réponses hédoniques aux odeurs et l'appréciation des aliments porteurs de ces odeurs.

Le troisième objectif de ce travail est d'étudier les relations pouvant exister entre les réponses olfactives et l'appréciation des aliments au cours de la prime enfance. Nous nous sommes intéressés spécifiquement aux trois âges clés de la formation du répertoire alimentaire : 8, 12 et 22 mois. Nous soutenons l'hypothèse que les réponses envers les odeurs testées seraient liées à l'appréciation des aliments porteurs de ces odeurs. Afin de tester notre hypothèse, nous nous sommes focalisés, dans un premier temps, sur les relations entre réponses olfactives et appréciation des aliments nouvellement introduits lors de la période de diversification alimentaire (8 mois). Ce travail fait l'objet de la partie 1 du chapitre 5, page 107. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés aux relations entre réponses olfactives et appréciation des aliments aux âges de 12 et 22 mois. Ce point fait l'objet du troisième article, présenté page 115.

L'étude de Coulthard & Blisset (2009) est la seule s'étant intéressée à la relation entre sensibilité chimiosensorielle et degré de néophobie chez l'enfant et nous apprend que les enfants ayant une sensibilité olfacto-gustative élevée sont ceux ayant un degré de néophobie élevé. Dans leur étude, la sensibilité a été évaluée par questionnaire en confondant les dimensions olfactives et gustatives, bien qu'il n'ait jamais été démontré de lien direct entre les réponses olfactives et gustatives.

Le quatrième objectif de ce travail a été d'étudier, d'une part, les liens entre réactivité olfactive et la réactivité gustative chez le jeune enfant et, d'autre part, d'évaluer de manière plus expérimentale les relations entre réactivité chimiosensorielle et le degré de néophobie alimentaire de l'enfant. Nous soutenons, d'une part, l'hypothèse que la réactivité olfactive et la réactivité gustative sont indépendantes. D'autre part, nous postulons que le degré de réactivité chimiosensorielle (olfactive et gustative) est liée au degré de néophobie alimentaire de l'enfant. En d'autres termes, plus l'enfant est réactif au plan olfactif et/ou gustatif, plus il est décrit comme néophobe au plan alimentaire. L'étude de ces hypothèses fait l'objet du quatrième article reporté page 137 de ce manuscrit.

\_

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Le terme réactivité, ici, renvoie aux réponses contrastées des enfants envers l'ensemble des stimulations olfactives ou gustatives.

### **Chapitre 2**

Méthodologie des tests olfactifs et des outils de mesure du comportement alimentaire

# 1. Recrutement et implication des participants dans la cohorte OPALINE

Modalité de recrutement

La cohorte OPALINE (Observatoire des Préférences Alimentaire du Nourrisson et de l'Enfant) a enrôlé 319 dyades mère/enfant de l'agglomération dijonnaise de janvier 2005 à aujourd'hui. Des campagnes de recrutement ont été réalisées, entre 2005 et 2009, avec l'aide de professionnels de la santé (gynécologues, sages-femmes, pédiatres) ou de la petite enfance (service de Protection Maternelle et Infantile, directrices de crèches), ainsi que par le biais de la presse locale. Des réunions d'informations avaient lieu environ une fois par mois afin de présenter l'étude aux femmes enceintes intéressées et leur conjoint, et répondre à leurs interrogations.

#### Critères d'inclusion et d'exclusion

Afin de permettre l'évaluation des expériences sensorielles précoces, les participantes étaient recrutées dès leur entrée dans leur troisième trimestre de grossesse. Les critères d'inclusion et d'exclusion étaient les suivants : avoir atteint la majorité légale et ne pas être atteinte d'une pathologie chronique pouvant impacter leur comportement alimentaire. De plus, les enfants devaient être en bonne santé à la naissance et, par la suite, ne présenter aucun trouble alimentaire grave, aucune allergie susceptible de contraindre leur alimentation.

Brève description des mesures globales réalisées au sein de la cohorte OPALINE

Les mères participantes étaient initialement enrôlées dans la cohorte OPALINE pour une période allant du troisième trimestre de grossesse jusqu'aux 2 ans de l'enfant. Un suivi additionnel a été cependant proposé aux 3, 4, 6 et 8 ans de l'enfant afin de poursuivre l'analyse de l'évolution des comportements alimentaires (non développé ici). Les participantes devaient renseigner des carnets de suivi alimentaire sur différentes périodes : durant le troisième trimestre de grossesse, l'allaitement et de la naissance de l'enfant à ses 15 mois. Des questionnaires concernant l'alimentation de l'enfant de 15 à 24 mois étaient

également complétés. Ces outils sont détaillés dans la partie 3 de ce chapitre. Les parents étaient également invités à compléter 7 questionnaires visant à évaluer les caractéristiques socio-économiques du foyer, l'environnement olfactif de l'enfant, le degré de néophobie alimentaire des parents, le niveau d'anxiété de la mère, le tempérament général et le alimentaire de l'enfant (détaillé dans la partie 4 de ce chapitre), ainsi que leur style éducatif.

Les parents étaient également conviés à accompagner leur enfant à 7 tests visant à évaluer leur réactivité sensorielle (olfactive et gustative). Le présent travail s'est focalisé sur l'étude des réponses olfactives des nourrissons à 3 âges clés de la formation du répertoire alimentaire :

- 8 mois, âge auquel les nourrissons ont débuté la diversification alimentaire (Turberg-Romain *et al.*, 2007);
- 12 mois, âge auquel les nourrissons sont dans une phase de transition où leur répertoire alimentaire passe d'aliments dits « bébés » à des aliments dits « adultes » (Briefel *et al.*, 2004; Le Heuzey *et al.*, 2007);
- 22 mois, âge auquel débute la néophobie alimentaire (Dovey et al., 2008).

Afin de remercier les participants pour leur implication, une indemnité totale de 180 euros ainsi que des cadeaux destinés aux enfants aux occasions spéciales (naissance et anniversaire) leur ont été remis.

### 2. Evaluation des réponses olfactives chez le nourrisson

### 2.1. Sélection des participants des tests olfactifs

Un focus a été réalisé sur 235 nourrissons de la cohorte OPALINE qui ont passé les tests olfactifs à chacun des 3 âges (8, 12 et 22 mois). Cette sélection a été réalisée afin de ne considérer dans notre analyse que les participants pour lesquels les données étaient disponibles à chacun des 3 âges étudiés. Les caractéristiques de ces participants sont reportées dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Caractéristiques des dyades mère/enfant sélectionnées pour cette étude relative aux tests olfactifs.

Caractéristiques des nourrissons					
Nombre de participants	235				
Filles (%)	112 (48%)				
Garçons (%)	123 (52%)				
Age en jours lors du 1 <sup>er</sup> test olfactif (moyenne ± SD)	$239 \pm 13$				
Age en jours lors du 2 <sup>nd</sup> test olfactif (moyenne ± SD)	372 ± 12				
Age en jours lors du 3 <sup>ème</sup> test olfactif (moyenne ± SD)	670 ± 10				

Caractéristiques des mèresAge en années (moyenne  $\pm$  SD) $33 \pm 5$ Naissance par césarienne (%)17Multipare (%)57

#### 2.2. Stimuli olfactifs

#### Choix des odorants alimentaires

Le choix des odorants s'est fait en fonction de l'analyse de la littérature portant sur les préférences et rejets alimentaires des jeunes enfants. En outre, il a été établi qu'une grande proportion d'enfants apprécie les fraises (85.4%), les abricots (68.5%) et les pommes (67.3%), tandis qu'ils n'apprécient guère l'ail (35.8%), les fromages à flaveur prononcée (30.7%) et les poivrons verts (25.2%) (Fischler & Chiva, 1985). Les fromages matures sont rarement choisis spontanément par les enfants dans une situation de libre choix en cantine (Nicklaus *et al.*, 2005b) et les poissons font partie du « hit-parade » des aliments les moins appréciés (Hanse, 1994). Par ailleurs, il a été démontré que l'odeur de poisson engendrait des réponses de dégoût chez le nouveau-né (Steiner, 1979) et que les jeunes enfants étaient plus sensibles à cette odeur comparés aux adultes (Solbu *et al.*, 1990). Enfin, il a été montré que l'acide butyrique et la vanilline provoquent des réactions hédoniques contrastées chez le nourrisson (Soussignan *et al.*, 1997).

Au vu de ces données, nous avons sélectionné 4 odorants (pomme, fraise, pêche/abricot et vanille) représentant des aliments appréciés et 4 odorants (disulfure de

diméthyle, triméthylamine, acide butyrique et 2-isobutyl-3-méthoxypyrazine) représentants des aliments moins appréciés (Tableau 4).

#### Préparation des odorants

Les 8 odorants sélectionnés dans cette étude ont été dilués soit dans de l'eau soit dans de l'huile minérale selon leur solubilité. Le tableau 4 présente les concentrations et les diluants utilisés pour chacun des odorants. Le contrôle utilisé lors de ces tests était l'huile minérale.

**Tableau 4.** Caractéristiques des odorants utilisés lors des tests olfactifs.

Odeurs <i>a priori</i> agréables			Odeurs <i>a priori</i> désagréables			
Odorants	Aliments associés	Concentrations	Odorants	Aliments associés	Concentrations	
Pomme <sup>c</sup> (mélange)	Pomme	0.6 mL/L <sup>a</sup>	Disulfure de diméthyle <sup>d</sup>	Ail, légumes crucifères	0.075 mL/L <sup>b</sup>	
Fraise <sup>d</sup> (mélange)	Fraise	0.7 mL/L <sup>b</sup>	Triméthylamine <sup>d</sup>	Poissons	0.025 mL/L <sup>a</sup>	
Pêche/abricot <sup>e</sup> (mélange)	Pêche/abricot	6 mL/L <sup>a</sup>	Acide butyrique <sup>f</sup>	Fromages	0.0025 mL/L <sup>b</sup>	
Vanilline <sup>f</sup>	Vanille	1 g/L <sup>a</sup>	2-isobutyl-3- méthoxypyrazine <sup>f</sup>	Légumes verts	0.0005 mL/L <sup>b</sup>	

<sup>a</sup>dilué dans de l'eau (Evian, France); <sup>b</sup>dilué dans de l'huile minérale (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France); <sup>c</sup>offert par Firmenich, Genève, Suisse; <sup>d</sup>offert par Symrise, Clichy la Garenne, France; <sup>e</sup>offert par IFF, Dijon, France; <sup>f</sup>acheté chez Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France.

#### Caractérisation des odorants

Afin de vérifier que les odeurs retenues étaient iso-intenses, non irritantes, de valence hédonique contrastée, et typiques de l'aliment qu'elles sont censés représenter, nous avons conduit une analyse sensorielle auprès d'un panel d'adultes constitué de 35 participants naïfs et non-fumeurs (22 femmes/13 hommes) de 19 à 48 ans. Pour ces évaluations, 4 échelles visuelles analogiques allant de «extrêmement désagréable/pas du tout intense/pas du tout irritant/pas du tout typique » à «extrêmement agréable/très intense/très irritante/très typique » ont été utilisées. Afin de se rapprocher des conditions de respirations des nourrissons qui n'ont pas de « sniffing » forcé face à une odeur (Schmidt & Beauchamp, 1988), nous avons demandé aux participants de simplement inhaler l'odeur sans modifier leur rythme respiratoire naturel. Les odorants ont été présentés selon un carré latin de Williams permettant

d'équilibrer les effets d'ordre et de report. Une pause inter-stimulus de 1 minute était fixée entre chaque présentation d'odorant. Cette évaluation a été réalisée en 2 séances d'environ 30 minutes. La première séance était dédiée à l'évaluation du caractère agréable, de l'intensité et du caractère irritant de chaque odeur. La seconde portait sur l'évaluation de la typicité.

Les résultats ont permis de confirmer la catégorisation *a priori* agréable ou désagréable des odeurs (Tableau 5). Le contrôle a été noté comme étant neutre. Les odeurs ont été évaluées comme étant iso-intenses exceptés la vanilline et l'acide butyrique qui avaient une note d'intensité plus faible, bien qu'ils étaient perceptibles. Concernant le caractère irritant, les odeurs désagréables, à l'exception de l'acide butyrique, ont été notées comme étant plus irritantes que les odeurs désagréables. Etant donné que les juges recrutés étaient des participants naïfs, nous pouvons supposer que le caractère irritant et le caractère désagréable ont été confondus. Nos résultats révèlent en effet une corrélation négative entre ces deux variables (tau=-0.40, p<0.001). Concernant la typicité, nos résultats ont indiqué que les odorants étaient bien représentatifs des catégories d'aliments censées représenter.

**Tableau 5.** Scores moyens du panel adulte pour le caractère agréable, l'intensité, le caractère irritant et la typicité des odorants sélectionnés dans l'étude OPALINE.

Odorants	Aliments associés	Caractère agréable	Intensité	Caractère irritant	Typicité
Fraise	Fraise	$8.69 \pm 1.46^{a}$	$7.55 \pm 1.72^{a}$	$2.65 \pm 2.99^{b}$	$8.38 \pm 2.20$
Pêche/abricot	Pêche/abricot	$8.17 \pm 1.86^{ab}$	$7.61 \pm 2.11^{a}$	$2.01 \pm 2.53^{bc}$	$8.28 \pm 2.03$
Pomme	Pomme	$8.08 \pm 1.92^{ab}$	$7.61 \pm 2.09^{a}$	$2.19 \pm 2.86^{bc}$	$7.84 \pm 2.37$
Vanilline	Vanille	$7.34 \pm 1.24^{b}$	$1.63 \pm 2.08^{c}$	$0.59 \pm 1.21^{c}$	$6.11 \pm 3.37$
2-isobutyl-3-	Légumes verts	$2.85 \pm 2.08^{d}$	$6.40 \pm 2.56^{a}$	$5.12 \pm 3.24^{a}$	$7.14 \pm 2.80$
méthoxypyrazine					
Disulfure de	Légumes crucifères	$2.17 \pm 2.09^{de}$	$6.75 \pm 2.97^{a}$	$6.27 \pm 3.09^{a}$	$6.91 \pm 2.93$
diméthyle					
Acide butyrique	Fromage	$2.11 \pm 1.96^{de}$	$5.17 \pm 3.37^{b}$	$3.57 \pm 3.22^{b}$	$7.87 \pm 2.31$
Triméthylamine	Poissons	$1.22 \pm 1.54^{\rm e}$	$7.79 \pm 2.23^a$	$5.48 \pm 3.62^{a}$	$7.84 \pm 3.06$
Huile minérale	-	$4.44 \pm 1.21^{c}$	$0.86 \pm 1.04^{c}$	$0.92 \pm 1.33^{c}$	-

Les notes de typicité se rapportent aux aliments associés. Il était demandé aux participants d'attribuer une note de typicité à chacun des odorants en se référant à l'aliment associé. Les valeurs ayant des lettres différentes sont significativement différentes selon le test de Newman (P < 0.05).

#### Mode de présentation des odorants

Le support utilisé pour la présentation de chacun de ces odorants était un biberon ergonomique sans tétine adapté à la manipulation des nourrissons (Figure 6). Chaque odorant était imbibé sur un papier absorbant (11 x 5 cm) placé dans chaque biberon. Chaque biberon était accompagné d'un capuchon, celui-ci était retiré au moment du test.

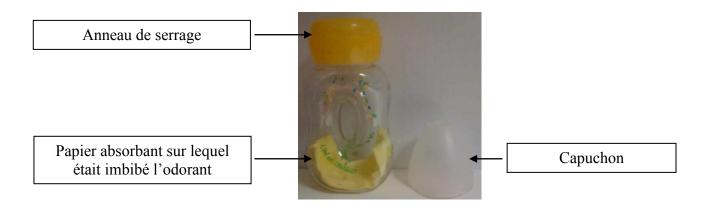


Figure 6. Photographie d'un biberon ergonomique sans tétine utilisé lors des tests olfactifs.

#### 2.3. Procédure

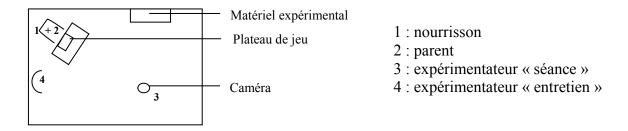
Les séances ont eu lieu dans des salles spécialement adaptées pour les tests impliquant des nourrissons ou de très jeunes enfants au Centre Européen des Sciences du Goût ou à l'INRA entre octobre 2005 et avril 2011.

Afin de contrôler l'état de faim ou de satiété lors des tests olfactifs, il était demandé aux parents de ne pas nourrir leur enfant 1h30 avant chaque test. De même, les parents étaient invités à ne pas se parfumer, ni parfumer leur enfant avant chaque séance afin d'éviter toute contamination olfactive lors des tests. Au début de chaque séance, le respect de ces consignes était vérifié et consigné sur la fiche de suivi de séance. Il était également vérifié que le nourrisson n'était pas enrhumé au moment du test.

Les procédures des tests olfactifs ont été adaptées à chaque âge afin de prendre en considération le stade développemental du nourrisson.

Procédure avec les nourrissons de 8 et 12 mois

Les nourrissons accompagnés de leur parent étaient accueillis par deux expérimentateurs : un expérimentateur dit « séance » et un expérimentateur dit « entretien ». Le nourrisson était installé sur les genoux du parent face à une table où était placé un plateau (45 x 25 cm) délimitant le champ de manipulation du nourrisson (Figure 7). Les séances étant filmées, une caméra était placée dans le champ du nourrisson, à une distance de 3.5 mètres, afin de pouvoir étudier son comportement exploratoire spontané.



**Figure 7.** Disposition de la salle de tests pour les nourrissons de 8 et 12 mois.

La séance débutait avec une phase d'acclimatation permettant au nourrisson de se familiariser avec l'environnement de la salle, ainsi qu'aux expérimentateurs. La durée de cette phase n'était pas fixée *a priori* et variait selon les nourrissons, mais n'excédait en général pas 5 minutes.

La procédure du test olfactif était expliquée aux parents et au nourrisson. Le parent avait pour consignes de ne pas interagir ni verbalement, ni physiquement avec son enfant, et de ne pas toucher ni récupérer le biberon s'il venait à glisser des mains du nourrisson. Le parent était invité à répondre à des questions sur l'environnement olfactif personnel et de la maison (par exemple : « Utilisez-vous des savons ou gels douche parfumés ? » ; «Utilisez-vous des bougies parfumées ? »). Cette phase était gérée par l'expérimentateur dit « entretien » et permettait de détourner l'attention du parent du test impliquant le nourrisson.

La phase de test olfactif était gérée par l'expérimentateur dit « séance ». Lorsque ce dernier jugeait que le nourrisson était acclimaté, le test olfactif débutait. L'expérimentateur présentait individuellement chacun des biberons tout en gardant une expression faciale neutre pour ne pas influencer le nourrisson. Il gérait la séance depuis l'écran de la caméra vidéo afin de laisser l'enfant manipuler seul le biberon sans interagir avec lui. La consigne donnée lors de la présentation de chaque biberon était : « *Tiens, Prénom du nourrisson, je te donne ce* 

premier/deuxième/.../ biberon, tu en fais ce que tu veux». Lors de chaque présentation de biberon, parallèlement à la consigne donnée oralement, l'expérimentateur ôtait le capuchon du biberon et le présentait sous le nez du nourrisson durant 5 secondes afin de couvrir un cycle respiratoire (Figure 8). Puis, le biberon était posé sur le plateau de jeu devant le nourrisson qui était ainsi libre de l'explorer durant 60 secondes. A la fin du temps imparti, le biberon était retiré et un autre biberon était présenté au nourrisson après une pause de 15 secondes.



**Figure 8.** Photographie illustrant la présentation du biberon à un nourrisson de 8 mois.

Des études précédentes et des pré-tests ont montré que les nourrissons refusaient de collaborer après la présentation de plusieurs odeurs désagréables en début de séance (Monnery-Patris *et al.*, 2004; Schmidt & Beauchamp, 1988). Afin d'optimiser la coopération du nourrisson, nous avons décidé de systématiser l'ordre de présentation des stimuli en alternant successivement contrôle, odeur agréable et odeur désagréable. De plus, afin de limiter le nombre de stimuli et ainsi la durée de la séance, aucun biberon contrôle n'a été placé entre la présentation des biberons contenant une odeur agréable et ceux contenant une odeur désagréable. Une séance comprenait donc la présentation de 12 biberons successifs organisés selon 4 triplets : triplet 1 (contrôle – pêche/abricot - poisson), triplet 2 (contrôle – pomme – légumes verts), triplet 3 (contrôle – vanille – légumes soufrés), triplet 4 (contrôle – fraise – acide butyrique). L'ordre de présentation des triplets a été décliné selon un carré latin donnant lieu à 4 ordres de présentation (Figure 9). Chaque nourrisson se voyait attribuer le même ordre de présentation à chaque âge testé. Ainsi par exemple, un enfant assigné à l'ordre A à 8 mois se voyait également présenter les biberons selon l'ordre A à 12 et 22 mois.

Après la présentation des 2 premiers triplets, une pause de 5 minutes était proposée (Figure 9). Si le nourrisson présentait des signes tangibles de fatigue (bâillement, frottement des yeux, détournement de la tête au profit du parent), la séance était arrêtée. Le parent était alors convié à revenir pour finaliser le test. Afin de maintenir constante les conditions de tests entre la première et la seconde séance, nous veillions alors à convoquer le parent au même moment de la journée. Une séance durait entre 50 et 55 minutes si l'intégralité des biberons était présentée au nourrisson.

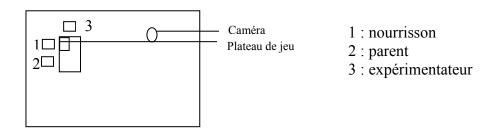
			Ordre A			
			Pause			
Triplet 1	/	Triplet 2	//	Triplet 3	/	Triplet 4
			Ordre B			
			Pause			
Triplet 3	/	Triplet 4	//	Triplet 1	/	Triplet 2
			Ordre C			
			Pause			
Triplet 2	/	Triplet 3	//	Triplet 4	1	Triplet 1
			Ordre D			
			Pause			
Triplet 4	/	Triplet 1	//	Triplet 2	/	Triplet 3

**Figure 9.** Ordre de présentation des odorants durant les tests olfactifs. Les séances consistaient en la présentation de 4 triplets composés de 3 stimuli (contrôle, odeurs agréables et odeurs désagréables). Les odorants ont été présentés selon quatre ordres de présentation.

#### Procédure avec les nourrissons de 22 mois

Des pré-tests ont révélé que les nourrissons de 22 mois avaient une attention plus limitée et étaient plus susceptibles d'être distraits par rapport aux nourrissons de 8 et 12 mois. Afin de tenir compte de ces capacités attentionnelles plus limitées, trois modifications ont été apportées à la procédure et au positionnement des nourrissons de 22 mois.

- Tout d'abord, le positionnement sur les genoux du parent n'était plus adapté pour un nourrisson de cet âge. Les nourrissons étaient désormais assis sur un rehausseur à côté de leur parent (Figure 10). Ce positionnement en côte à côte permettait de limiter les interactions visuelles entre le nourrisson et le parent.



**Figure 10.** Disposition de la salle de tests pour les nourrissons de 22 mois.

- De plus, la durée de présentation de chaque biberon a été diminuée à 30 secondes afin d'éviter toute lassitude pouvant engendrer un arrêt du test.
- Enfin, le parent a été impliqué dans le dispositif afin de motiver la participation du nourrisson au test. Un seul expérimentateur prenait part à ce test. La différence par rapport aux procédures précédentes résidait dans le fait de rendre le parent acteur en lui donnant un biberon. Ce dernier était un contrôle afin d'éviter toutes mimiques faciales ou remarques de la part du parent qui aurait pu influencer le nourrisson. Les consignes données par l'expérimentateur lors de la présentation de chaque biberon successif ont également été adaptées : « Regarde, Prénom du nourrisson, je te présente 2 biberons : il y en a un pour toi et un autre pour ta maman/ ton papa. Regarde comment on va jouer: je vais l'ouvrir sous le nez de ta maman/ ton papa et on va le sentir comme ça (l'animateur décapuchonne un des biberons contrôles et le sent avec insistance) et ensuite ce sera à ton tour. On le fait sentir à ta maman/ ton papa? (l'animateur présente le même biberon sous le nez de la mère/ du père qui le sent). Je le laisse à ta maman/ton papa, elle/il peut en faire ce qu'elle/il veut. Maintenant, à ton tour de sentir le biberon, je l'ouvre sous ton nez et on le sent comme ta maman/ton papa (l'animateur décapuchonne alors le premier biberon sous le nez du nourrisson durant 5 secondes). Tiens je te le laisse, tu peux en faire ce que tu veux ». Une grille de questions relatives à l'environnement olfactif du foyer était proposée au parent afin de détourner son attention de son enfant et limiter ainsi les interactions parent/enfant.

#### Considérations éthiques

Cette étude a été menée selon la déclaration d'Helsinki. Le protocole mis en place pour cette étude a reçu un avis favorable du Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale de Bourgogne (CCPPRB) le 29 mars 2004, ainsi qu'un avis favorable du Comité de Protection des Personnes (CPP) Est I le 13 septembre 2011. L'étude OPALINE a fait l'objet d'une déclaration normale à la CNIL. Les parents des nourrissons ayant participé à l'étude ont donné leurs consentements écrits éclairés.

#### 2.4. Mesure des variables comportementales

Sélection des variables comportementales cibles

Les séances de tests olfactifs impliquant les nourrissons de la cohorte OPALINE ont été filmées puis analysées image par image grâce au logiciel The Observer 5.0 (Noldus, Wageningen, Pays-Bas). Un éthogramme a été réalisé et soumis à discussion et validation auprès de l'équipe impliquée dans l'étude OPALINE. Les comportements à étudier devaient être exhaustifs, objectifs, mesurables en terme d'occurrence ou durée et non redondants. Chaque comportement étudié devait pouvoir être marqué par un début et une fin.

Les quatre variables comportementales suivantes ont été sélectionnées à partir de l'éthogramme et mesurées en termes de durée :

- 1. Manipulation, définie comme étant tout contact manuel avec le biberon que ce soit avec une ou deux mains, excepté si la mise en bouche du biberon (variables 2. ou 3.) avait lieu en même temps, auquel cas la mise en bouche primait. Ceci afin de rendre les variables étudiées exclusive lors de l'analyse des données.
- 2. Mise en bouche de l'anneau de serrage du biberon (proche de la source olfactive), définie comme étant un contact direct entre les zones péri-orales et/ou péri-nasales du nourrisson et l'anneau de serrage du biberon.
- 3. Mise en bouche de toute autre partie du biberon, définie comme étant un contact direct entre les zones péri-orales et/ou péri-nasales du nourrisson et toute partie du biberon, excepté l'anneau de serrage.
- 4. Non contact, défini comme étant l'absence de tout contact physique, que ce soit oral ou tactile, avec le biberon.

Le codage de ces variables comportementales a été réalisé par des observateurs entraînés n'ayant pas connaissance de la nature des stimuli présentés aux nourrissons. Afin de tester l'accord inter-juges, 30 vidéos (10 vidéos par juges \* 3 stimuli) ont été sélectionnées au hasard et analysées selon la grille éthologique définie ci-dessus. Le pourcentage moyen d'accord entre les observateurs était supérieur à 0.90 pour les durées des réponses comportementales étudiées.

La durée de mise en bouche du biberon est la variable cible retenue dans ce manuscrit. Il a été montré que la mise en bouche est un comportement fortement investi des nourrissons de 6 à 23 mois et apparaît comme leur mode d'exploration privilégié (Delaunay- El Allam et al., 2010). De plus, les données de la littérature nous apprennent que la mise en bouche est liée à d'autres indicateurs comportementaux permettant d'évaluer l'appréciation hédonique des odorants. Un lien a été mis en évidence entre la mise en bouche et les expressions faciales. En effet, les odeurs déplaisantes qui induisent des expressions faciales négatives induisent également moins de mouvements buccaux que les odeurs plaisantes (Soussignan et al., 1997). Toutefois, dans notre étude, il n'a pas été possible d'analyser précisément les expressions faciales des nourrissons du fait que les mains et le biberon tenu par le nourrisson masquaient la zone orale de ce dernier. La mise en bouche a également été rattachée à la recherche de stimuli. Les nourrissons manifestent à la fois une orientation céphalique et une activation buccale envers l'odeur du lait maternel humain (Marlier & Schaal, 2005). Une relation a également été établie entre la mise en bouche et la familiarité (Mennella & Beauchamp, 1998a), cette dernière étant corrélée avec l'appréciation (Ayabe-Kanamura et al., 1998; Delplanque et al., 2008). Ainsi, la mise en bouche apparaît être reliée à 3 autres indicateurs d'appréciation et d'attraction olfactive (expressions faciales, recherche de stimuli et familiarité).

Dans ce présent travail, cette variable a été déclinée en 2 sous-variables: mise en bouche de l'anneau de serrage ou mise en bouche de toute autre partie du biberon, hors anneau de serrage. Il est apparu que cette dernière sous-variable était faiblement exprimée et déclinait avec l'âge (20, 13 et 4 % des nourrissons exprimaient ce comportement pour au moins la moitié des stimuli aux âges de 8, 12 et 22 mois, respectivement). Par ailleurs, l'anneau de serrage étant une zone proche de la source olfactive, la mise en bouche ciblée sur cette zone nous est apparue plus pertinente pour mettre en évidence un attrait vers les odeurs. De plus, ce comportement est fortement investi chez le nourrisson (73, 72 et 78% des participants exprimaient ce comportement pour au moins la moitié des stimuli aux âges de 8, 12 et 22 mois, respectivement). Nous avons donc privilégié la mise en bouche de l'anneau par rapport à la mise en bouche de toute autre partie du biberon comme indicateur de l'attrait envers une odeur. Dans la suite de ce manuscrit, cette variable sera appelée « variable de mise en bouche » pour plus de simplicité.

#### Calcul de scores

La durée de mise en bouche a été calculée pour chacun des biberons odorisés ou contrôles. Lors des tests olfactifs, il était possible que le biberon soit inaccessible pendant un court laps de temps (par exemple, s'il était tombé). Une durée d'accessibilité a été calculée pour chaque biberon correspondant à la durée fixée des tests (60 secondes à 8 et 12 mois et 30 secondes à 22 mois) moins la durée d'inaccessibilité. Ainsi, une proportion de mise en bouche corrigée de la durée d'inaccessibilité a été calculée pour chaque stimulation selon la formule suivante :

Une fois les données corrigées de la durée d'inaccessibilité du biberon, les données ont été transformées en score<sup>7</sup> selon le calcul suivant :

#### Interprétation des scores

Un score de mise en bouche égal à 0.5 indique que le biberon odorisé et le biberon contrôle ont été mis en bouche pour une durée équivalente, suggérant une indifférence par rapport au biberon odorisé.

Un score de mise en bouche supérieur à 0.5 indique que le biberon odorisé a été davantage mis en bouche que le biberon contrôle, suggérant une attraction pour le biberon odorisé

Un score de mise en bouche inférieur à 0.5 indique que le biberon odorisé a été moins mis en bouche que le biberon contrôle, suggérant un évitement du biberon odorisé.

-

<sup>&</sup>lt;sup>7</sup> noté *mouthing score* dans l'article 1 et *odour liking score* dans les articles 2 et 3.

# 3. Evaluation des consommations et appréciation alimentaires de la mère et du nourrisson

## 3.1. Recueil des données relatives au comportement alimentaire de la mère et du nourrisson

## 3.1.1. Suivi alimentaire de la mère durant la grossesse et l'allaitement

Les aliments consommés par les mères des enfants décrits ci-dessus (voir partie 2.1 de ce chapitre) ont été enregistrés durant les périodes de grossesse et de l'allaitement. Durant la période de grossesse, un carnet de suivi alimentaire était renseigné durant une semaine pendant le 7<sup>ème</sup> mois<sup>8</sup>, une semaine pendant le 8<sup>ème</sup> et durant chaque semaine du 9<sup>ème</sup> mois. Durant la période d'allaitement (uniquement pour les mères allaitantes), un carnet de suivi alimentaire était complété une semaine par mois jusqu'à la fin de l'allaitement. Le carnet devait être rempli exceptionnellement sur les deux semaines suivant la naissance de son enfant. Il était donné pour consigne de renseigner le plus précisément possible les aliments consommés afin de permettre d'identifier avec précision les caractéristiques sensorielles des aliments consommés (Figure 11).

<sup>&</sup>lt;sup>8</sup> Durant le 7<sup>ème</sup> mois de grossesse, les mères n'ont pas toutes complété le carnet alimentaire menant à 25% de données manquantes. Nous avons ainsi exclu cette période de nos analyses.

Jour	Repas	Lieu	
Jour 3	Dîner	☐ Domicile / ☐ Hors domicile	
	Aliment ou boisson et toutes leurs caractéristiques (parfum, arôme, saveur, assaisonnement, accompagnement)		
Nem au ciahe Salach vert + Avecat + Thore pour verne noix de veco verne de pomme + oau plat	+ unugale	CONSERS DE	

Figure 11. Extrait d'un carnet de suivi alimentaire rempli par la mère durant la période d'allaitement.

#### 3.1.2. Suivi alimentaire des nourrissons de la naissance à deux ans

Les consommations alimentaires des nourrissons ont été reportées pendant 2 semaines après la naissance de l'enfant puis une semaine par mois dans des carnets alimentaires (Figure 12). Il était demandé aux parents de renseigner le plus précisément possible, de manière qualitative, les aliments donnés aux nourrissons afin d'identifier les caractéristiques sensorielles de leur régime alimentaire. Dans le cadre du volet 2 de ce travail (Article 2 - Impact des expositions aromatiques précoces sur les réponses olfactives), nous nous sommes intéressés à deux périodes :

- La période allant du début de la diversification jusqu'à 7 mois, période précédant le test olfactif mené à 8 mois,
- La période allant du début de la diversification jusqu'à 11 mois, période précédant le test olfactif réalisé à 12 mois.

Chapitre 2 : Méthodologie des tests olfactifs et des outils de mesure du comportement alimentaire

	VOTRE ENFANT Jour 1	Jour /Date Vendredi 12/05/06
Heure	LAIT	Intitulé exact du lait
8h00	Lait maternel	and the canet du mit
	Biberon de lait materne	
10h30	Biberon de lait materne	el .
16h00	Biberon de lait	Guigoz confort plus 2
19h30	Lait maternel	
	MEDICAMENTS (intitulé exact	Marque
	Fluor de Sodium	Fluostérol
	Colécalciflérol	Zymad

VOIRE ENFANT Jour 1							
Heure	Aliments ou boissons (avec leurs parfum, arôme, saveur, texture)	« bout de la cuillère »	A (Marque) ou FM	Réaction			
10h00	Jus d'orange + sucre		FM	-			
12h30	Babysoif Tilleul		A (Milupa)	+			
12h30	Petit pot de carottes	X	A (Nestlé)				
16h00	Petit pot pomme	X	A (Blédina)	++			

**Figure 12.** Exemple d'un carnet alimentaire où les parents rapportaient la consommation alimentaire de leur enfant.

A partir du moment de la diversification alimentaire et jusqu'à 15 mois du nourrisson, les parents devaient indiquer les 4 premières réactions aux aliments nouveaux introduits dans des cahiers de diversification. L'appréciation était évaluée *via* une échelle à 4 points allant de --, -, + à ++ (Figure 13). Des consignes précises étaient données aux parents concernant le remplissage de ces cahiers. Les exemples illustratifs suivants leur étaient donnés :

- --: tourne la tête, recrache, ferme la bouche, refuse définitivement dès la première bouchée....
- : en mange quelques cuillères, fait la grimace puis n'en veut plus ...
- + : en mange sans réaction particulière ...
- ++: accepte dès la première cuillère, sourit, consomme quasiment tout, en veut de nouveau, impression de bien-être ...

Les cahiers de diversifications étaient organisés en 9 catégories d'aliments : fruits, légumes & féculents, produits laitiers, viande-poisson-œufs, produits céréaliers, plats composés, desserts sucrés, mélanges, boissons et « autres ». Dans nos analyses, nous nous sommes intéressés à la première réaction aux aliments. Dans le cadre du volet 3 (Chapitre 5 partie 1), nous nous sommes intéressés à la période concomitante à celle des tests olfactifs réalisés à 8 mois, c'est-à-dire la période 8-10 mois.

Fruits							
Aliments ou boissons		1ère réaction			2ème réaction		
	Date	Particularités	Réaction	Date	Particula rités	Réaction	
			(/-/+/++)			(/-/+/++)	
petit pot pomme poire	11/03/06	dans le biberon de lait	++	25/03/06	dans le biberon de lait	++	
petit pot pomme poire	28/03/06		+	29/03/06		+	
compote de pomme	18/03/06	FM	+	20/03/06		+	
PXEMP (25 jus d'orange	14/03/06		+	15/03/06		+	
pêche au sirop	26/05/06	en petits dés	+	04/07/06	en petits dés	-	

**Figure 13.** Exemple d'un cahier de diversification alimentaire où les parents rapportaient les premières réactions aux aliments nouveaux introduits à leurs enfants.

A partir de la seconde année, les consommations et appréciations alimentaires des nourrissons ont été évaluées *via* des questionnaires rétrospectifs sur 3 mois. Les questionnaires étaient complétés par les parents lorsque leur enfant avait 15, 18, 21 et 24 mois. Pour les analyses, présentées dans l'article 3, nous nous sommes intéressés aux périodes concomitantes aux âges des tests olfactifs (12 et 22 mois), soit les questionnaires donnés à 15 et 24 mois.

Les questionnaires concernaient 13 catégories d'aliments : légumes, pommes de terre, viandes, abats-charcuterie-œufs, poissons-coquillages, pain-produits céréaliers-féculents, plats composés, fromages, laits et produits laitiers, fruits, biscuits-desserts-gâteaux-sucreries, condiments-épices-aromates-sauces, boissons et répertoriaient ainsi 257 aliments. Il était demandé aux parents de renseigner la fréquence de consommation *via* une échelle allant de « Tous les jours ou presque », « 1 à 3 fois par semaine », « 1 à 3 fois par mois », « Moins d'1 fois par mois » et « Jamais », ainsi que de renseigner l'appréciation de leur enfant *via* l'échelle déjà utilisée dans les cahiers de diversification (Figure 14).

(frais, surgelés, en conserve, en compote, secs, déshydratés sauf jus)										
	Tous les jours ou	1 à 3 fois par	narmois narmois Jamais	1 à 3 fois Moins d'1 fois JamaisAppréciation				Commentaire		
	presque	semaine		is par mois		-	+	++	Commentaire	
151 Abricot										
152 Pêche, nectarine, brugnon										
153 Prune, mirabelle										
154 Poire										
155 Pomme										
156 Citron										

Figure 14. Extrait du questionnaire donné aux parents à partir de 15 mois.

#### 3.2. Sélection des aliments porteurs des odorants étudiés

Parmi les 257 aliments et boissons du questionnaire, nous avons sélectionné les aliments et les boissons porteurs des odorants utilisés lors des tests olfactifs. Pour les odorants pomme, fraise, pêche/abricot et vanille, nous avons sélectionné les aliments correspondants. Dans les cahiers et les carnets alimentaires, nous avons sélectionné les aliments contenant de la pomme, de la fraise, de la pêche, de l'abricot ou de la vanille. Dans les questionnaires, nous avons sélectionné les items comprenant les aliments cibles. Par exemple, les fraises, en fruit ou en compote, ont été sélectionnées pour l'odorant fraise. Pour les autres odorants, nous avons examiné 3 bases de données chimiques des composés volatils : la base de données Flavor-Base<sup>©</sup> & 2010 commerciale Leffingwell Associates nommé (http://www.leffingwell.com), la base de données VCF 14.1 disponible via TNO Triskelion, les bases de données INRA-CSGA. Cette procédure nous a permis de sélectionner les aliments porteurs des odorants étudiés. Chaque odorant a ainsi été associé à une catégorie d'aliments, excepté le disulfure de diméthyle qui a été associé à deux catégories d'aliments (Tableau 6).

**Tableau 6.** Correspondance entre les odorants et aliments porteurs de ces odorants.

Odorants	Catégorie d'aliments	Aliments sélectionnés		
2-isobutyl-3-methoxypyrazine	Légumes verts	Poivron vert, haricot vert, salade, petits pois		
Disulfure de diméthyle	Légumes soufrés	Brocoli, chou blanc, vert, chou-fleur, chou de bruxelles, poireau, ciboulette, ail, oignon, échalote, câpres		
Disulfure de diméthyle	Fromages soufrés	Fromage ail et fines herbes, Cancoillotte, Camembert-Brie- Coulommier, Bleus, Munster- Epoisses- Maroilles		
Acide butyrique	Fromages	Raclette, Bonbel <sup>®</sup> -Babybel <sup>®</sup> -Port salut <sup>®</sup> , Emmental-Gruyère, Comté- Beaufort, Mont d'or-Saint marcellin, Camembert- Brie-Coulommier, Cantal- Morbier, Tomme-Saint nectaire, Munster- Epoisses-Maroilles, Bleus, Cancoillotte, Fromage de brebis		
Triméthylamine	Poisson	Morue séchée, poisson blanc, hareng, roussette, saumon frais, thon, sardine, maquereau, soupe de poisson, crustacés, coquillage, poisson pané		
Fraise	Produits à la fraise	Fraise (fruit ou compote), confiture de fraise		
Pêche/abricot	Produits à la pêche ou abricot	Pêche (fruit ou compote), abricot (fruit ou compote), confiture d'abricot, compote de pêche, compote d'abricot, gâteau fourré à l'abricot		
Pomme	Produits à la pomme	Pomme (fruit ou compote), jus de pomme		
Vanille	Desserts vanillés	Desserts vanillés		

# 4. Questionnaire visant à évaluer le comportement alimentaire du nourrisson

Lorsque le nourrisson était âgé de 22 mois, il était demandé aux parents de compléter le questionnaire de comportement alimentaire de l'enfant ou « Children's Eating Difficulties Questionnaire » (Rigal *et al.*, 2012) (Figure 15). Ce questionnaire était composé de 25 questions. Il était demandé aux parents de répondre aux questions en utilisant une échelle allant de « Très faux », «Faux », « Moyennement », « Vrai » à « Très vrai ». Ce questionnaire visait à évaluer 4 dimensions du comportement alimentaire de l'enfant : la néophobie alimentaire (exemple : mon enfant rejette les aliments nouveaux, rien qu'en les voyant), la sélectivité alimentaire (exemple : mon enfant mange seulement une petite variété d'aliments), un faible intérêt (exemple : mon enfant mange lentement), le petit appétit (exemple : mon enfant mange en petites quantités).

	Pour chaque phrase, cochez la case qui correspond le mieux à votre enfant (de "très faux" à "très vrai")	1 TRES FAUX	2 FAUX	3 MOYEN- NEMENT	4 VRAI	5 TRES VRAI
1	Mon enfant est content à l'idée de passer à table					
2	Mon enfant hésite avant de goûter un aliment nouveau					
3	Mon enfant a un comportement alimentaire facile					
4	Mon enfant aime beaucoup certains aliments et en rejettent d'autres très fortement					
5	Mon enfant est intéressé par la nourriture					
6	Il arrive que mon enfant fasse des caprices à table (à propos des aliments servis)					
7	Mon enfant rejette de nombreux fruits					
8	Mon enfant mange en petites quantités (même s'il aime ce qu'il mange)					
9	Mon enfant accepte spontanément de goûter les aliments qu'il ne connaît pas					
10	Mon enfant mange seulement une petite variété d'aliments					
11	Mon enfant préfère manger les aliments dont il a l'habitude					
12	Mon enfant rejette un nombre important d'aliments					
13	Mon enfant est un petit mangeur (quel que soit ce qui est servi, bon ou mauvais)					
14	Mon enfant fait la grimace quand on lui présente de nouveaux aliments					
15	Mon enfant est difficile à table					
16	Mon enfant a bon appétit					
17	Mon enfant accepte une grande variété de légumes					
18	Mon enfant rejette les aliments nouveaux, rien qu'en les voyant					
19	Mon enfant a du plaisir à manger					
20	Si on le laissait faire, mon enfant mangerait trop des aliments qu'il aime					
21	Mon enfant mange lentement (même quand il aime ce qu'il mange)					
22	Mon enfant apprécie les aliments forts en goût					
23	Mon enfant a (a eu) des régurgitations					
24	Mon enfant souffre (a souffert) de maux de ventre et de troubles digestifs					
25	Mon enfant souffre (a souffert) d'acidité gastrique / reflux					

Figure 15. Questionnaire visant à évaluer le comportement alimentaire de l'enfant.

## **Chapitre 3**

Les réponses olfactives au cours des deux premières années de vie

## **ARTICLE 1**

Infants' hedonic responsiveness to food odours: a longitudinal study during and after weaning (8, 12 and 22 months)

Paru dans Flavour



RESEARCH Open Access

# Infants' hedonic responsiveness to food odours: a longitudinal study during and after weaning (8, 12 and 22 months)

Sandra Wagner<sup>1,2,3</sup>, Sylvie Issanchou<sup>1,2,3</sup>, Claire Chabanet<sup>1,2,3</sup>, Luc Marlier<sup>4,5</sup>, Benoist Schaal<sup>1,2,3</sup> and Sandrine Monnery-Patris<sup>1,2,3\*</sup>

#### **Abstract**

**Background:** Olfaction is a highly salient sensory modality in early human life. Neonates show keen olfactory sensitivity and hedonic responsiveness. However, little is known about hedonic olfactory responsiveness between the neonatal period and 2 years of age. In an attempt to fill this gap, this longitudinal follow-up study aimed at investigating hedonic responses to food odours in infants during the first 2 years of life. The second objective was to evaluate whether gender has an influence on hedonic responses during this early period. Four control stimuli and eight odours (four rated by adults as a priori pleasant and four a priori unpleasant) were presented in bottles to 235 infants at 8, 12 and 22 months of age. The infant's exploratory behaviour towards odorized and control bottles was measured in terms of mouthing defined as direct contact with perioral and/or perinasal areas. For each odorized bottle, duration proportions of mouthing were calculated relative to the control bottles.

**Results:** For the three ages, shorter duration of mouthing was found for unpleasantly scented bottles compared to pleasantly scented bottles. This contrast between pleasant and unpleasant odours was similar for girls and boys. Correlations of responses between ages were modest in number and level, and concerned mostly unpleasant odours.

**Conclusion:** During the first two years of life, infants discriminate the hedonic valence of odours. They avoid most of the food odours considered as unpleasant by adults, but their attraction towards food-odours judged pleasant by adults does not appear to be fully shaped at this early age. Taken as a whole, the present results highlight both the plasticity of hedonic responses to food odours, and relatively stable avoidance behaviours towards some unpleasant odours.

Keywords: Human infant, Olfaction, Food odours, Preference, Development

#### **Background**

Olfaction is a highly salient sensory modality in early human life. Shortly after birth, neonates can detect and discriminate odorants that differ in quality or intensity [1]. For example, 4-day-old neonates differentiate odour cues carried in their own amniotic fluid or in their mother's milk, when presented against control stimuli [2], and they can also olfactorily differentiate their own amniotic fluid

or their mother's milk from amniotic fluid or milk from another mother [3,4]. Neonates can also discriminate various artificial odorants [5], as shown by their directional head responses [6] or by heart- and respiratory-rate changes [5,7]. For example, full-term neonates display significantly greater respiratory changes when they are exposed to either vanillin or butyric acid compared to an odourless control [7]. Besides, in the very first hours of life, differential facial responses discriminate odours classified a priori by an adult panel as pleasant (that is, banana and vanilla odours) or as unpleasant (that is, rotten egg and shrimp odours) [8]. Pleasant odours elicit facial expressions read by adult coders as denoting enjoyment

Full list of author information is available at the end of the article



<sup>\*</sup> Correspondence: Sandrine.Monnery-Patris@dijon.inra.fr

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>CNRS, UMR6265 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000, Dijon, France

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>INRA, UMR1324 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000, Dijon, France

while unpleasant odours elicit facial expression interpreted as evoking disgust. Nevertheless, in a later study, the assessment of 3-day-old infants' facial expressions to highly diluted vanillin and butyric acid odours reveals that butyric acid elicits more negatively valenced facial expressions, while vanillin elicits as often negative and positive responses [7].

Beyond the neonatal period, infants do also exhibit hedonically specific behaviours to odours. For example, 9-month-old infants respond differentially to objects as a function of their odour; while butyric acid odour induces rejection of the object, the odour of methyl salicylate (which is locally considered pleasant by adults and children) elicits exploratory responses to it [9]. Nevertheless, infants from 7 to 15 months were found to exhibit less mouthing and handling for an object bearing an odour that was unfamiliar to them (violet) over an unscented object, even if violet was considered as neutral to pleasant by older children and adults [10]. In older children, hedonic responsiveness to odours can be assessed using a forced-choice categorization procedure. With this method, it was demonstrated that 2- to 3-year -old children exhibit adult-like preference patterns [11]. Beyond 3 years, hedonic assessment becomes easier and more reliable as children can then be asked to verbally report their odour likes and dislikes [12].

This quick survey of the literature indicates that most published results on the development of hedonic responsiveness to odours derive from studies run with neonates or with children older than 2 years, leaving almost blank the period in between. The main objective of the present study was thus to contribute to fill this gap in assessing the hedonic responsiveness to food odours along the first 2 years of life, a period during which the eating pattern of infants shifts from an exclusively milk-based diet until about 6 months to the typical local diet of adults at about 2 years. During this period of food diversification, infants are thus directly exposed to an extended range of flavours and odours. This period includes three ages corresponding to key steps in the establishment of the food repertoire: 8, 12 and 22 months. In France, at the age of 8 months, 100% of infants have consumed foods other than human or formula milk [13]. Then, around the age of 12 months, their food repertoire is progressively changing from baby foods to table foods, which provide a wider range of chemosensory stimuli [14,15]. By about 2 years of age, infants increasingly exhibit food neophobia, which is defined as the reluctance of trying foods that are novel or unknown to the child [16,17]. Based on these three periods of progressive changes in infant feeding and chemosensory experience in the culture described above, olfactory tests were followed up longitudinally when the participants were aged 8, 12 and 22 months. The goal of this study was to assess how olfactory responses develop along this period of marked changes in the ways food-related stimuli are experienced. As suggested by Schmidt and Beauchamp [11], it was expected that infants would exhibit olfactory preferences that increasingly resemble those of adults during the period when they change from the mixed diet, including milk and baby-foods, to the local diet of adults. Thus, food odours locally considered pleasant by adults are expected to increasingly elicit attraction in growing infants, whereas food odours considered unpleasant by adults are expected to increasingly induce avoidance in infants.

Another relevant issue that relates to hedonic responsiveness is the influence of gender. Since the first psychophysical tests at the end of the nineteenth century, women are considered to be better in odour detection and discrimination as compared to men, and this gender difference was already noted in prepubertal children [18,19]. It was hypothesised that this gender difference derived either from lower thresholds or from higher cognitive abilities in women than in men (especially in tasks involving language or semantic performance) [19-21]. In older children in the 6 to 12 year range, girls were found to pay more attention than boys to a variety of odour contexts in everyday settings [22]. However, in the study of Durand et al. [10] on infants aged 7 to 15 months, no such gender effect was noted. Thus, gender differences in olfactory abilities remain controversial, and this study aimed to assess their development in the context of hedonically contrasted food-related odours.

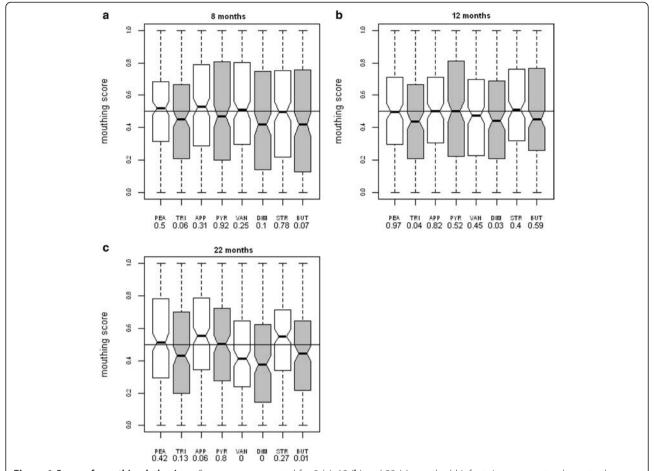
#### **Results**

#### **Exploratory behaviour**

The infants' exploratory activity was assessed by focusing on the duration of mouthing, which is considered as an index of interest for, and attraction to, a given odorant (see the Methods section). For each odorant, a mouthing score was computed based on the duration of mouthing. These mouthing scores were expected to be significantly higher than 0.5 for pleasant odours, indicating attraction for these odorants over the control. By contrast, mouthing scores lower than 0.5 were expected for unpleasant odours, indicating avoidance.

A global analysis (see Methods) run on the four pleasant versus the four unpleasant odour stimuli revealed a significantly lower mouthing score for the unpleasant than for the pleasant stimuli for the three age groups (P = 0.001, 0.006, and 0.04 at 8, 12 and 22 months, respectively).

Specific analyses run on each odorant showed that at 8 months, the mouthing scores were not significantly different from 0.5 for any of the tested odorants (Figure 1a). At 12 months, the mouthing score for trimethylamine and dimethyl disulphide became significantly lower than 0.5, suggesting a lower oro-tactile exploration compared to the



**Figure 1 Score of mouthing behaviour.** Scores are represented for 8 (a), 12 (b) and 22 (c) month-old infants in response to pleasant odours (PEA, peach/apricot; APP, apple; VAN, vanillin; STR, strawberry) in white, and in response to unpleasant odours (TRI, trimethylamine; PYR, 2-isobutyl-3-methoxypyrazine; DIM, dimethyl disulphide; BUT, butyric acid) in grey. *P*-values are from the Wilcoxon test comparing the median value to 0.5. The score is a ratio between the odorant and the sum of the odorant and the control, and 0.5 represents the value where no differences are observed between the odorant and the control.

control stimulus (Figure 1b). Finally, at 22 months, the mouthing scores induced by dimethyl disulphide and butyric acid odours remained significantly lower than 0.5, and the odour of vanillin also elicited mouthing scores lower than 0.5 (Figure 1c). In contrast, the mouthing score for the apple odour tended to be higher than 0.5, but without reaching statistical significance (Figure 1c).

These results suggest that from 8 months infants exhibit a differential mouthing behaviour towards pleasant and unpleasant odours. This difference in mouthing was mostly due to a shorter duration of mouthing for trimethylamine and dimethyl disulphide compared to the control at 12 months, and for dimethyl disulphide and butyric acid at 22 months. Pleasant odours did not elicit longer mouthing durations than did controls. Unexpectedly, at 22 months, vanilla - one of the pleasant odours - elicited a shorter mouthing duration than the control.

#### Correlations between age groups

Kendall correlations between the mouthing scores (of each odorant) at the different age points are given in Table 1. Correlations were rather modest, and were intermittently significant across age groups. Mouthing scores were significantly linked between the ages of 8 and 12 months for dimethyl disulphide, and between 12 and 22 months for butyric acid.

Kendall correlations between responses to all odours and two consecutive age points were also performed per infant in order to assess individual stability of the olfactory responses. The medians of the distribution of the Kendall correlation coefficients were 0.07 between 8 and 12 months, and 0 between 12 and 22 months. Wilcoxon tests revealed that the medians of the distributions were not significantly different from 0 (all P-values >0.39). Thus, we noted as many positive as negative correlations, and only 6% were significant (P <0.05). Therefore,

Table 1 Kendall correlations (unilateral tests) between mouthing scores at two ages

_		-			
Hedonic value	Odorants	8 to 12 months		12 to 22 m	onths
		Kendall τ	P	Kendall τ	Р
Pleasant odours	PEA	0.05	0.19	0.06	0.13
	APP	0.06	0.12	-0.05	0.80
	VAN	-0.06	0.87	-0.04	0.82
	STR	-0.03	0.73	0.07	0.12
Unpleasant odours	TRI	0.05	0.20	< 0.01	0.48
	PYR	-0.02	0.62	-0.02	0.63
	DIM	0.12*	0.01*	0.02	0.36
	BUT	-0.01	0.55	0.11*	0.03*

The odorants were peach/apricot (PEA), apple (APP), vanillin (VAN), strawberry (STR), trimethylamine (TRI), 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (PYR), dimethyl disulphide (DIM), butyric acid (BUT). The number of participants varied between 140 and 175 because in some cases, toddlers did not complete the session, thus data for some odorants were missing. \*Significant correlation (P <0.05).

very few infants exhibited similar exploratory mouthing behaviours towards the present set of odorants at two different ages.

#### **Gender effects**

Wilcoxon tests performed on the individual differences between the median of mouthing scores obtained for pleasant odours and the median of mouthing scores obtained for unpleasant odours did not reveal any gender effect ( $P=0.77,\ 0.36,\$ and 0.62 at 8, 12 and 22 months, respectively).

#### **Breast feeding effects**

Additional Wilcoxon tests were performed on the differences between the median of mouthing scores obtained for pleasant odours and the median of mouthing scores for unpleasant odours to compare breast-fed and bottle-fed infants at 8 months. No effect of breast feeding reached significance for mouthing behaviour (P = 0.44). Moreover, no difference was noted between infants who were still breast-fed at 8 months and infants who were no longer breast-fed (P = 0.17).

#### Discussion

#### Mouthing behaviour

The results of the present study indicate that infants aged from 8 to 22 months exhibit differential mouthing responses to food odours that were classified as pleasant or unpleasant by an adult panel. A first finding was that infants' responses considered to express avoidance were clearer than responses considered to express attraction. In our conditions, infants could show negative appreciation for odours by manifesting less mouthing responses than the control, and conversely they could show positive appreciation by expressing more mouthing responses than

the control. It came out that most of the odours that were selected because they were unpleasant for adults of the same culture, and because they corresponded to foodstuffs known to be avoided by children and infants, elicited reduced mouthing responses (that is, trimethylamine in 12month-old, dimethyl disulphide in 12- and 22-month-old, and butyric acid in 22-month-old infants). However, the same analyses on the odours chosen because they were pleasant to adults and represented foodstuffs generally liked by children resulted in the absence of strong positive responsiveness at any age (in comparison to control stimuli). While not obviously attractive to the infants, these pleasant odours were however not repulsive, as indicated by the fact they did not elicit decreased mouthing responses, with one notable exception (vanilla) that will be developed below. Thus, in the present experimental conditions, most odours that are pleasant for adults appeared to be treated by 8- to 22-month-old infants as hedonically neutral (that is, not different from the control stimuli). It is worth noting that our study was carried out when the infants were not hungry, at least as reported by their mothers, and deduced from the time of the last feed prior to the test. Thus, their motivation to investigate foodrelated stimuli may not be maximal, and even more so as these stimuli were presented by the means of bottles. It cannot be excluded that the hedonic responses to the pleasant food odorants might have been exacerbated if infants had been in hunger state, but this is a point of future enquiry. As expected, participants' hedonic responses indicated avoidance for most of the unpleasant odorants tested here, and this might reflect the dislike ratings for these odours by the adult panel. However, the participants' hedonic responses were clearly not aligned with those of adults for the pleasant odours. Multiple explanations can be advanced to figure out this asymmetric hedonic response pattern of infants to the present set of stimuli.

First, although previous studies showed that neonates and children older than 3 years of age express an adultlike pattern of olfactory preferences [8,11], their results must be carefully examined. In Steiner's work assessing neonates' facial responses while exposing them to highly concentrated odour stimuli, the most unambiguous negative facial actions were released by the stimuli that were unpleasant to adults. The neonates' facial responses to the pleasant odour were not as clear-cut, and, accordingly, the corresponding between-observer agreement was medium to low. For example, the infant's facial responses to the fruity odour (banana) was rated as expressing acceptance, rejection, and indifference in 55, 20 and in 25% of the participants, respectively; similarly, 46% acceptance, 46% indifference and 8% rejection ratings were assigned to infants' facial reactions elicited by the vanilla odour. Thus, infants and adults did not appear to attribute equivalent hedonic value to odours,

and this is clearer on the side of odours considered pleasant to adults. Steiner [8] himself noted, but without further elaboration, a difference in neonates' responses to pleasant versus unpleasant odours in terms of hedonic clarity of their facial reactions ("...the appearance and the course of the reaction to "pleasant odours" was more hesitant or sluggish [than those to "unpleasant" odours]'; p. 274). A later study on neonatal hedonic responses using highly diluted, intensity-matched pleasant and unpleasant odour stimuli supported the notion that neonates do not appraise odour hedonics as adults do, in that they react positively to some odours that adults find aversive, and conversely [7]. Finally, although they demonstrated an overall higher convergence between children and adults, studies on older participants also highlighted age-related discrepant hedonic responses to pleasant odours, while unpleasant odours generated more unanimous responses. For example, in Schmidt and Beauchamp's study [11] in 31- to 38-month-old infants, the participants responded differently from adults to odours among both pleasant and unpleasant representatives in the odour series. Thus, the results of the present study, not only corroborate previous studies in younger and older participants in showing different hedonic evaluation of odours by infants and adults, but they highlight that this age-dependent difference is more pronounced for odours that are not aversive to adults. In other words, food odours that are unpleasant to adults at least those tested in our study - can be predicted with some reliability as also unpleasant for infants, while it is more difficult to predict how infants will perceive food odours that are pleasant to adults. A possible sensory basis of the differential responses induced in infants by the pleasant versus unpleasant odours in the present study will be further developed below.

A second explanation of the asymmetry in hedonic responses to pleasant/unpleasant odours may be related to the design of the present study, which might have accentuated contrasts between the stimuli presented within a same triplet. The within-triplet presentation order of the stimuli was intended to limit the infants' loss of compliance and attention, so unpleasant stimuli were systematically administered last (first, scentless control; second, pleasant odour; third, unpleasant odour; see Methods section). In this way, we could have created contrast effects (that is, controlpleasant and pleasant-unpleasant), as well as affective carry-over effects from the pleasant odour on the unpleasant odour. Thus, control-pleasant contrasts might have increased the sensory salience of pleasant odours, while pleasant-unpleasant contrasts might have either magnified perception of unpleasant odours due to a quality contrast, or attenuated it due to a carry-over effect of pleasant appraisals onto unpleasant appraisals. As these effects were not systematically manipulated so that all contrasts are represented, any final statement is unwarranted. What can be noted, however, is that the control-pleasant contrasts did not enhance the infants' attraction as indexed by the mouthing response to the stimulus bottles containing the pleasant odours. Regarding the pleasant-unpleasant odour contrasts, it cannot be decided whether they magnified or attenuated avoidance responses to unpleasant stimuli, but such avoidance responses were high anyway.

It can also be suggested that the consecutive presentation of stimuli can lead to a boredom effect magnifying avoidance responses to unpleasant odours. These stimuli were always presented third and last in the sequence, and are compared to the controls, which were presented first. If a systematic boredom effect had occurred, the scores calculated for the unpleasant odours would have been significantly lower than 0.5. However, the present results did not systematically indicate differences between control and unpleasant stimuli (scores are significantly lower than 0.5 for trimethylamine and dimethyl disulphide at 12 months, and for dimethyl disulphide and butyric acid at 22 months). Thus, the avoidance responses observed towards the unpleasant odours mentioned above are more likely due to the perception of hedonic valence than to a potential boredom effect.

A third explanation of the asymmetry in hedonic responses to pleasant/unpleasant odours may be that the pleasant stimuli were unfamiliar, whereas the unpleasant stimuli were both unfamiliar and conveyed trigeminal potency. Several studies showed indeed that unfamiliar odours are treated as either hedonically neutral [23] or aversive [10]. In our conditions, the stimuli considered pleasant evoked neither attraction, nor avoidance responses (with the exception of vanilla; see below) in 8-, 12- and 22-month-old infants. Regarding unpleasant stimuli, their unfamiliar quality is obviously confounded with irritant properties as reported by adults (see below, Methods section). Thus, the infants' avoidance reaction towards unpleasant odours could be explained in part by the trigeminal component of the odours. This hypothesis is backed by adult data on these odours, showing that irritation ratings and pleasantness ratings are negatively correlated (tau = -0.40, P < 0.001). However, trigeminal side effects do not explain avoidance responses to all odours. For example, whereas the odours of strawberry and butyric acid did not differ significantly in terms of irritation ratings by adults, strawberry odour did not induce avoidance while butyric acid odour did. Finally, vanillin elicited avoidance behaviour (reduced mouthing at 22 months), despite the fact that this compound is typically regarded devoid of trigeminal properties [24,25], and was the least irritating in the present odour series. Thus, the negative impact of unpleasant odours in our study cannot be exclusively attributed to confounded trigeminal features.

Although the various explanations offered above may have contributed separately or in combination to the present pattern of findings (that is, an asymmetry in hedonic responses to pleasant/unpleasant odours), our data cannot fully tell them apart. Nonetheless, the main results of a differential hedonic responsiveness of 8- to 22 -month-old infants to pleasant and unpleasant odours are in line with studies conducted on earlier and later ages (see references in the Introduction). Taking the present findings together with earlier published data, it may be generally concluded that infants and children appear to be more reliable in their negative responses than in their positive responses to odours. For example, while the facial actions expressing disgust do accurately differentiate butyric acid from vanilla odours, those expressing smiles are not discriminant [7,26]. In sum, during early development, odour-related hedonic processes may be better integrated on the negative pole than on the positive pole of the hedonic space [27].

The finding on vanilla odour was unexpected: despite vanilla being rated as highly pleasant by adults, it induced avoidance in 22-month-old infants. Vanilla odour is assumed to be one of the most familiar odorants in the present stimulus series as it is a regular aroma component of formula milk and infant foods. Two processes can be proposed to explain infants' avoidance of this particular odorant in the present conditions. First, it is known from previous infant studies that frequent and/or recent exposures to a specific flavour lead to a boredom effect, thus altering an infant's responsiveness to it [28,29]. For example, an increase in acceptance for carrot-flavoured cereals after exposure to carrot flavour through mother's milk was noted when the delay between last exposure and acceptance testing was from 4 to 6 months [30], but not when it was only 3 days [28]. Second, an alliesthesia effect may have operated, infants responding rather negatively to odours and flavours that dominated in their food. Satiation-related factors were indeed shown to reduce liking of food odour in neonates [31] and older children [32], and there is no reason why such motivational factors should not also affect infants of intermediate ages although age differences in alliesthesia effects were shown in later development [32]. Finally, and in line with the previous effect, it cannot be excluded that the test-bottle used in the present study could be reminiscent of the bottle from which the infants drank beverages. Since most formula milk for older infants are vanilla-flavoured, infants may have expected a reward when presented a vanilla-scented bottle. This expectation not being satisfied in the test, infants may have exhibited less mouthing.

This study assessed the development of hedonic responses to odours at three time points in the first 2 years of life. When considering the 8 odours separately,

no significant difference in mouthing score was noted at 8 months, whereas two significant differences were observed at 12 months (for trimethylamine and dimethyl disulphide). Finally, three significant differences were observed at 22 months (dimethyl disulphide, butyric acid and vanillin). All but one of these differential odourbased mouthing responses concerned unpleasant odours. One could argue that infants might exhibit increasingly sharper avoidance behaviour when they grow older. The progressive emergence of neophobia [17] could explain this behavioural change.

As regards the correlations between mouthing scores for the same odorant at two different ages, some significant correlations were noted only for unpleasant odours. Moreover, if we look at the individual correlations calculated between ages, only a few were significant (about 6% of all correlations tested). Thus, very few infants display the same pattern of mouthing behaviour towards the odours between two different age points. These results suggest both inter- and intra-individual differences in the development of the hedonic perception of the odours. Given that the organization of the human olfactory epithelium may reflect key dimensions of olfactory perception (odorant pleasantness) [33], one may think that this organization is stable and inflexible. Nevertheless, this mapping of odour perception is malleable by context and experience [33]. Thus, either positive or negative context of previous exposures can contribute to the uniqueness of each individual's development of the hedonic appraisal of odours or flavours [34,35]. Alternatively, the emergence of food neophobia could also explain individual variability in the development of hedonic perception of odours. This phenomenon could happen more or less early depending on infants, and its strength could differ as a function of an infant's temperament [17,36]. Individual variability from one age to the other suggests plasticity of olfactory responses across time, which is particularly important in the formation of positive responsiveness to odours. This assumption is backed by a follow up study which indicated a significant increase in liking of food odours between the ages of 3 and 5 years [12]. By contrast, the present results indicate that infants' responses to the unpleasant odours are partially stable across ages. Moreover, the follow-up study mentioned above on 3- to 5-year-olds showed that there is no significant change of dislike for odours classified as toxic [12]. It seems that odours related to potential toxic or harmful foods are considered as unpleasant - and are actually avoided in laboratory studies - early in life, and remain unpleasant and avoided when infants grow up (at least when presented only as chemosensory stimuli). This response might constitute an olfactory alarm system protecting against potentially toxic food. Finally, it has been shown that 6- to 12-year-old children from

different ethnic backgrounds (French Canadians, Sudanese Indonesian, and Syrian) agreed on the odours they judged as being unpleasant but not on those judged as being pleasant [37], highlighting the relative consensus of children's responses towards unpleasant odours relative to pleasant ones.

#### Gender effect

No gender effect reached significance concerning differential mouthing responses between pleasant and unpleasant odours. Thus, the present result supports the studies in olfactory development that do not report any gender difference [10]. As semantic representations were shown to already influence olfactory perception in young children [38], and as female individuals early outperform male individuals in olfactory identification tasks [20], gender differences in olfaction might appear mostly when verbal abilities reach some maturity.

#### Breast feeding effect

No breast feeding effect was noted on the mouthing behaviours studied at 8 months. This result raises two hypotheses. Either breast-feeding has no effect on olfactory responses from the age of 8 months, or complementary feeding already well engaged at 8 months has equalized flavour and odour experience in breast-fed and bottle-fed infants. Consequently, complementary feeding may have masked the effects of breast feeding. This last hypothesis is in line with a previous finding showing that breast-fed infants express higher initial acceptance of a novel flavour than bottle-fed infants, and that this difference disappears after repeated exposure to that flavour [39].

#### **Conclusions**

The present study longitudinally assessed the hedonic responses of infants aged 8, 12 and 22 months to odour stimuli chosen to represent typical local foods that are pleasant and unpleasant to adults. The infants' hedonic responsiveness to the distinct odorants was discriminative between these stimuli, but they were more obvious toward the unpleasant odours. Some correlations reached significance between age points, but they were noted only for a few unpleasant odours, suggesting that, in the first two years of life, olfactory preferences undergo a phase of developmental plasticity. During this extended period of early life when infants shift from lacteal to solid foods carrying diverse qualities, their likes/ dislikes for odours are certainly fine-tuned by exposure and learning effects in the feeding context. Nevertheless, from the earliest age point, infants also manifested avoidance responses that appeared to be stable across ages, suggesting a pattern of early olfactory responsiveness that is plastic on the pleasant side and both predisposed and plastic on the unpleasant side of the perceptual space.

#### **Methods**

#### Context and ethical conditions

The present data were collected in the context of a longitudinal investigation of food preferences from birth up to 2 years of age within an Observatory of Food Preferences in Infants and Children (Observatoire des Préférences Alimentaires du Nourisson et de l'Enfant, OPALINE). Participating mothers were recruited before the last trimester of pregnancy, using leaflets and posters affixed in health professionals' practices and in day-care centres. To be included in the cohort, both parents had to have reached 18 years of age (legal majority), and infants had to be in good health. The aims and methods of the study were explained to both parents in great detail. For the part of the programme intended to investigate longitudinal changes in infants' reactions to food odours, the parents were extensively informed about the methods and timing of the olfactory tests. Written informed consent was obtained from the parents to bring their infant to the laboratory when she or he was 8, 12 and 22 months of age (± 2 weeks) to participate in olfactory testing. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki, and was approved by the local ethical committee (Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale de Bourgogne).

#### **Participants**

The infants (n = 235, 112 girls and 123 boys) participated in the experiment at each time point, at about 8, 12, and 22 months (mean age  $\pm$  SD 239  $\pm$  13 days, 372  $\pm$  12 days, and 670  $\pm$  10 days, respectively). They were born without medical complications, with an average birth weight of 3.30  $\pm$  0.48 kg. At the time of the visits to the laboratory, they were in optimal health, did not present any eating disorders or oro-nasal infection or allergies, and had all begun complementary feeding (on average at 167.3  $\pm$  32.6 days of age). Among the participants, 89 and 11% of the participants were breast- and bottle-fed at birth, respectively, and at the 8-, 12- and 22-month visit, 23, 10, and 4% of the infants were still partly breast-fed, respectively.

#### Stimuli

Eight odorants representing diverse foods were used (Table 2). These stimuli were selected to form a set comprising four odours that were considered a priori pleasant (apple, peach/apricot, strawberry and vanillin) and four odours that were considered a priori unpleasant (dimethyl disulphide, trimethylamine, butyric acid and 2-isobutyl-3-methoxypyrazine). The rationale for choosing these odour qualities is that they represent foodstuffs

Table 2 Characteristics of odorants

A priori pleasant odours			A priori unpleasant odours			
Odorants	Associated foods	Concentrations	Odorants	Associated foods	Concentrations	
Apple <sup>c</sup> (mixture)	Apple	0.6 mL/L <sup>a</sup>	Dimethyl disulphide <sup>d</sup>	Garlic, cruciferous	0.075 mL/L <sup>b</sup>	
Strawberry <sup>d</sup> (mixture)	Strawberry	0.7 mL/L <sup>b</sup>	Trimethylamine <sup>d</sup>	Fish	0.025 mL/L <sup>a</sup>	
Peach/apricot <sup>e</sup> (mixture)	Peach/apricot	6 mL/L <sup>a</sup>	Butyric acid <sup>f</sup>	Cheese, rancid butter	$0.0025~\mathrm{mL/L^b}$	
Vanillin <sup>f</sup>	Vanilla	1 g/L <sup>a</sup>	2-isobutyl-3-methoxypyrazine <sup>f</sup>	Green vegetables	$0.0005~\mathrm{mL/L^b}$	

<sup>a</sup>diluted in water (Evian, France); <sup>b</sup>diluted in mineral oil (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France); <sup>c</sup>provided by Firmenich, Geneva, Switzerland; <sup>d</sup>provided by Symrise, Clichy la Garenne, France; <sup>e</sup>provided by IFF, Dijon, France; <sup>f</sup>bought from Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France.

that evoke contrastive liking responses in young participants. A large proportion of French children have declared to strongly like strawberries (85.4%), apricots (68.5%), and apples (67.3%), and quite a large proportion declared to dislike garlic (35.8%), strong cheese (30.7%), and green pepper (25.2%) [40]. Further, mature cheese and fish were scarcely chosen by infants in a free-choice situation (11 and 9%, respectively) [41], and fish odour is generally known to be rejected in young children [42] and neonates [8]. Butyric acid and vanillin were chosen since previous studies showed contrasted hedonic responses in infants and young children [7,43]. In the present study, four odours were thus associated with foods generally liked by children, and four odours were associated with foods quite often disliked. The control stimuli consisted of mineral oil.

The providers of the odorants, their dilution grade and solvents are given in Table 2. Each stimulus was presented in nipple-less, transparent infant-ergonomic bottles ( $12 \times 6$  cm, opening diameter of 2.3 cm; Tex, Carrefour, France). Odorant solutions (10 ml) were soaked in a scentless absorbent (3 M, Lièges, Belgium), a strip of which ( $11 \times 5$  cm) was placed in the bottom of the bottles to optimize evaporation and avoid spilling. During the tests, no visual differences between the control and odorized bottles were accessible to the infant or the mother.

The hedonic valence, subjective intensity, irritation from the eight odorants, or their typicality to represent a given foodstuff was checked by an adult panel. Naïve and non-smoking participants (n = 35, 22 women and 13 men, mean age  $\pm$  SD 34.5  $\pm$  7.7 years, range 19 to 48 years) devoid of respiratory allergies and/or nasal pathologies were asked to rate pleasantness, intensity, irritation and food typicality of the eight odorants on four different visual analogue scales ranging from 'highly unpleasant/not at all intense/not at all irritating/not at all typical' to 'highly pleasant/very intense/very irritating/ very typical'. The responses were converted into scores varying from 0 to 10. To mimic infants who do not spontaneously express sniffing [11], the panellists were asked to smell by merely inhaling the odours. The presentation order of the odorants was balanced between subjects, with a 1-minute inter-stimulus time. As expected, the odorants were clumped by the adults into two categories (Table 3), one pleasant (that is, apple, peach/apricot, strawberry and vanillin) and another unpleasant (that is, 2-isobutyl-3-methoxypyrazine, butyric acid, dimethyl disulphide and trimethylamine). The control stimulus was rated hedonically neutral. All odorants were rated as equivalently intense, except vanillin and butyric acid, which were rated as significantly less intense, with vanillin rated as less intense than butyric acid. The stimuli were different regarding ratings of irritation. All unpleasant stimuli except butyric acid were rated as significantly more irritant than the pleasant stimuli. Finally, all odorants were judged to be typical of their associated foodstuff.

#### Procedure

The experiment took place in a quiet, ventilated room especially dedicated to run experiments with young participants. All tests were completed in the presence of one parent, usually the mother. To control the infants' hunger state, parents were asked not to feed them for at least 1.5 hours before the test session. Compliance with this instruction was checked before the test by asking when the infant's last meal had occurred and was confirmed. Parents were also asked not to apply any scented care products on their infant or on themselves the day of the test, and not to disturb the infants' sleeping rhythm.

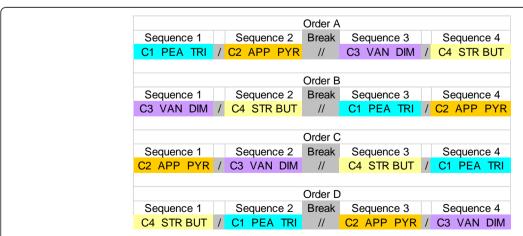
To accustom the participants to the experimental room and to the experimenters, a familiarization phase took place before the test itself. The 8- and 12-month-olds were seated on their parent's lap, whereas the 22-month-olds were seated in a baby-seat next to the parent. All participants were seated facing a remote-controlled video camera placed unhidden at a distance of 3.5 meters (no experimenter was operating the camera in front of the participants). A white game board ( $45 \times 25$  cm) was placed on the table in front of them to delineate the area of exploration. Parents were asked not to interact with the infant during the test, and not to handle the bottles. The test was introduced to the infant as the "game of odours". In an attempt to

Table 3 Mean ± standard error of pleasantness, intensity, irritation and typicality for each odorant rated by an adult panel on continuous scales of 0 to 10

-					
Odorants	Odour source	Pleasantness	Intensity	Irritation	Typicality
Strawberry	Strawberry	8.69 ± 1.46 <sup>a</sup>	7.55 ± 1.72 <sup>a</sup>	2.65 ± 2.99 <sup>b</sup>	8.38 ± 2.20
Peach/apricot	Peach/apricot	$8.17 \pm 1.86^{ab}$	7.61 ± 2.11 <sup>a</sup>	$2.01 \pm 2.53^{bc}$	$8.28 \pm 2.03$
Apple	Apple	$8.08 \pm 1.92^{ab}$	$7.61 \pm 2.09^{a}$	$2.19 \pm 2.86^{bc}$	$7.84 \pm 2.37$
Vanillin	Vanilla	$7.34 \pm 1.24^{b}$	$1.63 \pm 2.08^{c}$	$0.59 \pm 1.21^{c}$	$6.11 \pm 3.37$
2-isobutyl-3-methoxypyrazine	Green vegetables	$2.85 \pm 2.08^{d}$	$6.40 \pm 2.56^{a}$	$5.12 \pm 3.24^{a}$	$7.14 \pm 2.80$
Dimethyl disulphide	Cruciferous or bulb vegetables	2.17 ± 2.09 <sup>de</sup>	$6.75 \pm 2.97^{a}$	$6.27 \pm 3.09^{a}$	6.91 ± 2.93
Butyric acid	Cheese	2.11 ± 1.96 <sup>de</sup>	$5.17 \pm 3.37^{b}$	$3.57 \pm 3.22^{b}$	$7.87 \pm 2.31$
Trimethylamine	Fish	$1.22 \pm 1.54^{e}$	$7.79 \pm 2.23^{a}$	$5.48 \pm 3.62^{a}$	$7.84 \pm 3.06$
Mineral oil	Scentless	4.44 ± 1.21 <sup>c</sup>	$0.86 \pm 1.04^{\circ}$	$0.92 \pm 1.33^{\circ}$	-
Mineral oil	Scentless	4.44 ± 1.21 <sup>c</sup>	$0.86 \pm 1.04^{\circ}$	(	0.92 ± 1.33 <sup>c</sup>

Typicality scoring refers to the name of odour sources. Participants were asked to rate how odorant is typical of odour source. For Pleasantness, Intensity and Irritation, values with different letters are significantly different according to Newman-Keuls test (P < 0.05). Examples of cruciferous vegetables are cabbage and cauliflower; examples of bulb vegetables are garlic, onion and shallot.

control and standardize parent-infant interactions during the tests themselves, a first experimenter questioned the parent about domestic habits involving smell (data not shown), while a second experimenter handed the bottles to the infant. The odorized and control bottles were presented one by one in sequences of three bottles: a control stimulus, followed by a pleasant odour, and an unpleasant odour. This order of presentation was chosen to avoid the infant refusing to pursue the test after smelling an unpleasant odour first (as was noted in previous studies [11] and in our own pilot tests). To limit the number of stimuli, and, hence, session duration, no control stimulus was included between pleasant and unpleasant odours. A typical test session included four sequences, that is, four stimulus triplets (each composed of one control stimulus, one pleasant and one unpleasant stimuli). The presentation order of these stimulus triplets was balanced between subjects (Figure 2), but was maintained constant within subjects across the three ages. The following instructions were given to the participants: 'Here, [name of the infant], I give you this bottle and you can do anything you want with it'. The experimenter presented the bottle under the nose of the infant during 5 s to cover several breathing cycles, placed it in front of her/him, and let her/him free to investigate the bottle during 60 s at 8 and 12 months. Preliminary tests revealed that signs of disinterest for the test were expressed more rapidly in 22-month-old infants than at the other ages. Thus, the duration of stimulus presentation was shortened to 30 s at this age. At the end of each odour presentation, the bottle was gently removed by the experimenter, and the next bottle was presented approximately 15 s later. A break varying from 5 to 15 minutes was managed after the presentation of the first two stimulus triplets. If the infant looked tired, angry or bored with testing, the session was ended after the presentation of two triplets, and the parent was asked to bring the infant



**Figure 2 Presentation orders of odours.** A sequence is composed of three odours (control, a priori pleasant odour and a priori unpleasant odour). C, control. A priori pleasant odours were apple (APP), peach/apricot (PEA), strawberry (STR) and vanillin (VAN). A priori unpleasant odours were butyric acid (BUT), dimethyl disulphide (DIM), 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (PYR) and trimethylamine (TRI).

again on another day (within a maximum of two weeks) to complete the test (13, 39, and 25% of the infants had to come twice to the laboratory at the ages of 8, 12 and 22 months, respectively). However, in some cases the impossibility of return within this delay period led to missing values (1, 2, and 7% of missing values at 8, 12 and 22 months respectively).

#### Behavioural variables

The test sessions were video recorded to be later analysed frame-by-frame using the Observer software (Noldus, Wageningen, The Netherlands) to measure the duration of selected behaviours of infants toward the test bottles. Four variables were defined including: 1) handling, defined as any manual contact with the bottle using one or both hands (unless if mouthing occurred simultaneously; see below); 2) mouthing the bottle top (near the odour source), defined as direct contact between the infant's perioral and/or perinasal areas with the opening of the bottle (regardless of co-occurring handling; see below); 3) mouthing another part of the bottle, defined as direct contact between the infant's perioral and/or perinasal areas with any part of the bottle except the top (regardless of co-occurring handling; see below); and 4) no handling, defined as the absence of any physical (manual and oral) contact of the infant with the bottle. To render the different variables exclusive in the analytic scheme, mouthing actions were coded as mouthing only, despite the fact that infants were then also unavoidably handling the bottle. The coding of these behavioural variables was run by trained observers who were blind to the identity of the stimulus. Ten video sequences were randomly selected to check inter-observer reliability. The average percentage of agreement was >0.90 for the durations of the selected behaviour responses.

Preliminary analyses indicated that mouthing directed to any other part of the bottle than the top decreased with age (that is, 20, 13 and 4% of the participants responded this way for half or more of the stimuli at 8, 12 and 22 months, respectively), while mouthing the top of bottle remained relatively stable and frequent (that is, 73, 72 and 78% displayed it for half or more of the stimuli at 8, 12 and 22 months, respectively). Thus, we decided to focus on the duration of mouthing directed to the top of the bottles. Handling, mouthing and no handling responses were previously used as variables to characterize infants' proximal behaviour with objects for example, as previously published [10]. For example, mouthing was reported by Delaunay-El Allam et al. [23], as being a most privileged mode of positive object exploration in infants aged 6 to 23 months based on the fact that these infants mouthed an object carrying a familiar odorant more than a visually similar object carrying an unfamiliar odorant. Moreover, mouthing is related to other behavioural indicators highlighting infants' hedonic appreciation of odorants. For example, there is evidence for a link between mouthing and facial emotion expressions. Unpleasant odours that elicit negative facial expression also induce less mouthing movement than pleasant odours [7]. In our experimental design, it was not possible to precisely analyse the infants' facial expressions, as when infants handled and mouthed the bottle the bottle and infants' hand masked the mouth region. Mouthing can also be linked to stimulus seeking. For instance, infants respond by both increased head orientation and mouthing activation to human milk odour [44]. Moreover, a relationship between mouthing and familiarity has been established by Mennella and Beauchamp (1988) [45], and it is otherwise known that familiarity often correlates with pleasantness [38,46,47]. To sum up, mouthing appears to be related to three indicators of pleasantness and attraction (facial expressions, stimulus seeking, and familiarity), and we used it here as a reliable indicator of hedonic discrimination in young infants. As regards the modes of expressing negative or avoidant tendencies in their behaviour, infant studies have often focused on responses involving no handling of the target stimuli [10]. Initially, we intended to contrast the infants' responses in two opposite trends: on the one hand, mouthing considered as an index of interest and attraction and, on the other hand, no handling considered as an index of disinterest or avoidance. However, as the no handling response might also be considered as expressing an absence of noticeable response, it does not necessarily demonstrate avoidance. Taking this last possibility into account, all the present analyses were focused on the durations of mouthing as indicative of the participants' tendencies to explore the odour conveyed in the bottle.

If infants dropped the bottle on the floor, so that the bottle was then inaccessible for a while, we computed a duration of stimulus accessibility (accessibility duration = fixed duration of the test (that is, 60 s at 8 and 12 months, and 30 s at 22 months) minus duration of inaccessibility) for each test. Then, the durations of mouthing were divided by the duration of accessibility to obtain proportional durations of mouthing (called thereafter mouthing).

For each odorant, duration data were then transformed into mouthing scores defined as the proportion of time during which a target bottle was mouthed relatively to the added proportions of time this bottle and the matched control bottle were mouthed. For example, the mouthing score for the apple bottle was equal to proportion of mouthing duration to the apple bottle/(proportion of mouthing duration to apple odorant + proportion of mouthing duration to the control bottle). Mouthing scores equal to 0.5 indicate the same duration

of response to a given odorant bottle and the control bottle, and are interpreted as expressing indifference to the odour. A ratio >0.5 indicates attraction, while a mouthing score <0.5 indicates avoidance of the odour relative to the control. Thus, for each infant and at each age, eight mouthing scores (four for pleasant odours and four for unpleasant odours) were calculated.

#### Statistical analyses

At each age, individual median scores for pleasant and for unpleasant odours were calculated. Then, a paired Wilcoxon test was performed at each age to test whether the median scores were significantly different in terms of hedonic valence of the odours. Moreover, for each odour, Wilcoxon tests were used to assess whether the score was different from the 0.5 level of neutrality. For each odour, Kolmogorov-Smirnoff tests were performed to compare the distributions of scores at two consecutive age points. Kendall correlations were computed to assess whether the scores for a given odour at two age points were correlated (unilateral tests). Kendall correlations were also performed to assess whether the individual scores (for all odours) at two age points were correlated (unilateral tests). Moreover, for each age point, Wilcoxon tests were performed to assess the effect of gender on the differences between individual median scores for pleasant odours and individual median scores for unpleasant odours. Finally, Wilcoxon tests were performed to assess the effect of past and present breast feeding at 8 months on the differences between individual median scores for pleasant and individual median scores for unpleasant odours. Since very few infants were still breast fed at 12 and 22 months, analyses were not performed for these two age points.

All statistical analyses were carried out using the R software (version R2.11.1; Vienna, Austria) [48]. Results are reported as statistically significant if P < 0.05, and as marginally significant if P < 0.10.

#### Competing interests

The authors declare that they have no competing interests. The OPALINE project was sponsored by both public and corporate funding, but these instances did in no way interfere with the tested hypotheses, methods, presentation and interpretation of results.

#### Authors' contributions

SMP, SI, BS and LM designed the study. SMP and SW coded behaviour. CC and SW performed data analysis. SW, SI, SMP, CC, BS and LM were involved in writing the paper. All authors read and approved the final manuscript.

#### Acknowledgements

The authors thank the infants and parents who took part in this study. The authors also wish to thank C Laval (ChemoSens Platform) for recruitment; A Vincent, A Fornerol, R Bouhalassa, E Szleper, J Pierard, V Feyen, F Durey for data collection; C Gulluscio for behavioural analyses; V Feyen, F Durey (ChemoSens Platform) and C Martin (ChemoSens Platform) for assistance in adult testing; and the whole OPALINE team for support and advice. The present study was carried out with the financial support of the Regional Council of Burgundy, the Institut Fédératif de Recherche n°92, and the ANR (n° ANR-06-PNRA-028, OPALINE). This study also benefited from financial

supports from the following corporations: Blédina, CEDUS, Nestlé, Symrise, and Valrhona. The authors thank Symrise, IFF and Firmenich for graciously providing the odorants. This study was also labelled by Vitagora.

#### **Author details**

<sup>1</sup>CNRS, UMR6265 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000, Dijon, France. <sup>2</sup>INRA, UMR1324 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000, Dijon, France. <sup>3</sup>Université de Bourgogne, UMR Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000, Dijon, France. <sup>4</sup>CNRS, UMR7237 Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives, Strasbourg 67000, France. <sup>5</sup>Université de Strasbourg, UMR 7357 ICube, Strasbourg 67000, France.

Received: 5 March 2013 Accepted: 28 May 2013 Published: 11 June 2013

#### References

- Schaal B: Olfaction in infants and children: developmental and functional perspectives. Chem Senses 1988, 13:145–190.
- Marlier L, Schaal B, Soussignan R: Neonatal responsiveness to the odor of amniotic fluids: a test of perinatal chemosensory continuity. *Child Dev* 1998. 69:611–623.
- Marlier L, Schaal B: Familiarité et discrimination olfactive chez le nouveauné: influence différentielle du mode d'alimentation. In L'odorat chez l'enfant: perspectives croisées. Volume 1. Edited by Schaal B. Vendôme: PUF; 1997:47–61. Enfance.
- Schaal B, Marlier L, Soussignan R: Olfactory function in the human fetus: evidence from selective neonatal responsiveness to the odor of amniotic fluid. Behav Neurosci 1998, 112:1438–1439.
- Engen T, Lipsitt LP, Kaye H: Olfactory responses and adaptation in the human neonate. J Comp Physiol Psychol 1963, 56:73–77.
- Balogh RD, Porter RH: Olfactory preferences resulting from mere exposure in human neonates. Infant Behav Dev 1986, 9:395–401.
- Soussignan R, Schaal B, Marlier L, Jiang T: Facial and autonomic responses to biological and artificial olfactory stimuli in human neonates: re-examining early hedonic discrimination of odors. *Physiol Behav* 1997, 62:745–758.
- Steiner JE: Human facial expressions in response to taste and smell stimulation. Adv Child Dev Behav 1979, 13:257–295.
- Schmidt HJ: Olfactory perception in infants. Perfumer & Flavorist 1990, 15:57–59.
- Durand K, Baudon G, Freydefont L, Schaal B: Odorization of a novel object can influence infant's exploratory behavior in unexpected ways. *Infant Behav Dev* 2008, 31:629–636.
- 11. Schmidt HJ, Beauchamp GK: Adult-like odor preferences and aversions in 3-year old. *Child Dev* 1988, **59**:1136–1143.
- Rinck F, Barkat-Defradas M, Chakirian A, Joussain P, Bourgeat F, Thevenet M, Rouby C, Bensafi M: Ontogeny of odor liking during childhood and its relation to language development. Chem Senses 2011, 36:83–91.
- Turberg-Romain C, Lelievre B, Le Heuzey M-F: Conduite alimentaire des nourrissons et jeunes enfants âgés de 1 à 36 mois en France: évolution des habitudes des mères (Evolution of feeding behavior in mothers of infants and young children from 1 to 36 months old in France). Arch Pediatr 2007, 14:1250–1258.
- Fantino M, Gourmet E: [Apports nutritionnels en France en 2005 chez les enfants non allaités âgés de moins de 36 mois]. Arch Pediatr 2008, 15:446–455
- Briefel RR, Reidy K, Karwe V, Jankowski L, Hendricks K: Toddlers' transition to table foods: impact on nutrient intakes and food patterns. J Am Diet Assoc 2004, 104:S38–S44.
- Cashdan E: A sensitive period for learning about food. Human Nature 1994. 5:279–291
- Dovey TM, Staples PA, Gibson EL, Halford JCG: Food neophobia and 'picky/ fussy' eating in children: a review. Appetite 2008, 50:181–193.
- Toulouse E, Vaschide N: [Mesure de l'odorat chez l'homme et la femme]. Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie et de ses Filiales 1899, 51:321 393
- Brand G, Millot J-L: Sex differences in human olfaction: between evidence and enigma. Q J Exp Psychol B 2001, 54B:259–270.

- Monnery-Patris S, Rouby C, Nicklaus S, Issanchou S: Development of olfactory ability in children: sensitivity and identification. *Dev Psychobiol* 2009, 51:268–276.
- 21. Doty RL, Cameron EL: Sex differences and reproductive hormone influences on human odor perception. *Physiol Behav* 2009, **97**:213–228.
- Ferdenzi C, Coureaud G, Camos V, Schaal B: Human awareness and uses of odor cues in everyday life: results from a questionnaire study in children. Int J Behav Dev 2008, 32:422–431.
- 23. Delaunay-El Allam M, Soussignan R, Patris B, Marlier L, Schaal B: Longlasting memory for an odor acquired at the mother's breast. *Dev Sci* 2010, 13:849–863.
- Cometto-Muñiz JE, Cain WS, Abraham MH: Determinants for nasal trigeminal detection of volatile organic compounds. Chem Senses 2005, 30:627–642.
- Doty RL, Brugger WE, Jurs PC, Orndorff MA, Snyder PJ, Lowry LD: Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiol Behav* 1978, 20:175–185.
- Soussignan R: Olfaction, réactivité hédonique et expressivité faciale chez l'enfant. In L'odorat chez l'enfant: perspectives croisées. Volume 1. Edited by Schaal B. Vendôme: PUF; 1997:65–83. Enfance.
- Schaal B, Soussignan R, Marlier L: Olfactory cognition at the start of life: the perinatal shaping of selective odor responsiveness. In Olfaction, taste, and cognition. Edited by Rouby C, Schaal B, Holley A, Dubois D, Gervais R. Cambridge, UK: The Press Syndicate of the University of Cambridge; 2002;421–440
- Mennella JA, Beauchamp GK: Experience with a flavor in mother's milk modifies the infant's acceptance of flavored cereal. Dev Psychobiol 1999, 35:197–203.
- Mennella JA, Kennedy JM, Beauchamp GK: Vegetable acceptance by infants: effects of formula flavors. Farly Hum Dev 2006, 82:463–468.
- 30. Mennella JA, Jagnow CP, Beauchamp GK: Prenatal and postnatal flavor learning by human infants. *Pediatrics* 2001, 107:e88.
- Soussignan R, Schaal B, Marlier L: Olfactory alliesthesia in human neonates: prandial state and stimulus familiarity modulate facial and autonomic responses to milk odors. Dev Psychobiol 1999, 35:3–14.
- Jiang T, Schaal B, Boulanger V, Kontar F, Soussignan R: Children's reward responses to picture- and odor-cued food stimuli: a developmental analysis between 6 and 11 years. Appetite 2013. doi:10.1016/j. appet.2013.04.003.
- Lapid H, Shushan S, Plotkin A, Voet H, Roth Y, Hummel T, Schneidman E, Sobel N: Neural activity at the human olfactory epithelium reflects olfactory perception. Nat Neurosci 2011, 14:1455–1461.
- 34. Epple G, Herz RS: Ambient odors associated to failure influence cognitive performance in children. *Dev Psychobiol* 1999, **35**:103–107.
- Zellner DA: How foods get to be liked: some general mechanisms and some special cases. In *The hedonics of taste*. Edited by Bolles RC. Hillsdale, New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates; 1991:199–217.
- 36. Pliner P, Loewen ER: Temperament and food neophobia in children and their mothers. *Appetite* 1997, **28**:239–254.
- Schaal B, Soussignan R, Marlier L, Kontar F, Karima IS, Tremblay RE: Variability and invariants in early odour preferences: comparative data from children belonging to three cultures. Chem Senses 1997, 22:212.
- Bensafi M, Rinck F, Schaal B, Rouby C: Verbal cues modulate hedonic perception of odors in 5-year-old children as well as in adults. Chem Senses 2007, 32:855–862.
- Hausner H, Nicklaus S, Issanchou S, Mølgaard C, Møller P: Breastfeeding facilitates acceptance of a novel dietary flavour compound. Clin Nutr 2010. 29:141–148.
- Fischler C, Chiva M: Food likes, dislikes and some of their correlates in a sample of French children and young adults. In Measurement and determinants of food habits and food preferences. Volume report7. Edited by Diehl JM, Leitzmann C. Wageningen: Department of Human Nutrition, Agricultural University; 1985:137–156. EURO-NUT.
- Nicklaus S, Boggio V, Issanchou S: Food choices at lunch during the third year of life: high selection of animal and starchy foods but avoidance of vegetables. Acta Paediatr 2005, 94:943–951.
- 42. Solbu EH, Jellestad FK, Straetkvern KO: Children's sensitivity to odor of trimethylamine. *J Chem Ecol* 1990, **16**:1829–1840.
- Soussignan R, Schaal B: Children's facial responsiveness to odors: influences of hedonic valence of odor, gender, age, and social presence. Dev Psychol 1996, 32:367–379.

- Marlier L, Schaal B: Human newborns prefer human milk: conspecific milk odor is attractive without postnatal exposure. Child Dev 2005, 76:155–168.
- 45. Mennella JA, Beauchamp GK: Infant's exploration of scented toys: effect of prior experiences. *Chem Senses* 1998, **23**:11–17.
- Ayabe-Kanamura S, Saito S, Distel H, Martinez-Gomez M, Hudson R: Differences and similarities in the perception of everyday odors a Japanese-German cross-cultural study. Ann NY Acad Sci 1998, 855:694–700
- Delplanque S, Grandjean D, Chrea C, Aymard L, Cayeux I, Le Calve B, Velazco MI, Scherer KR, Sander D: Emotional processing of odors: evidence for a nonlinear relation between pleasantness and familiarity evaluations. Chem Senses 2008, 33:469–479.
- R Development Core Team: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria: Vienna, Austria; 2010. ISBN 3-900051-07-0, URL http://www.R-project.org.

#### doi:10.1186/2044-7248-2-19

Cite this article as: Wagner *et al.*: Infants' hedonic responsiveness to food odours: a longitudinal study during and after weaning (8. 12 and 22 months). *Flayour* 2013 2:19

## Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at www.biomedcentral.com/submit



## Que retenir de l'étude de la dynamique des réponses olfactives au cours des deux premières années de vie ?

L'étude des réponses olfactives au cours des deux premières années de la vie met en avant que, dès 8 mois, les nourrissons sont capables de discriminer les odeurs agréables des odeurs désagréables. Cependant, les nourrissons à 8, 12 et 22 mois n'expriment pas de réponses d'attraction envers les odeurs agréables. En revanche, à 12 et 22 mois, les nourrissons expriment des réponses d'évitement marquées face à la plupart des odeurs désagréables testées. A 8 mois, seules des réponses d'évitement modérées ont été observées (effet marginal).

L'étude de la dynamique des réponses olfactives au cours des deux premières années de la vie révèle très peu de liens entre les réponses olfactives à deux âges successifs. Ces résultats suggèrent une certaine plasticité dans le développement de la perception hédonique des odeurs au cours des deux premières années de vie. Ce développement pourrait être fonction du contexte et de l'expérience. De plus, les liens observés entre 2 âges concernent des odeurs désagréables, suggérant une certaine stabilité des réponses d'évitement uniquement pour le pôle négatif de l'espace hédonique. Cette stabilité peut suggérer l'existence d'un système d'alarme olfactif protégeant l'enfant des substances potentiellement dangereuses.

## **Chapitre 4**

Influence des expositions aromatiques précoces sur les réponses olfactives

## **ARTICLE 2**

Liking of food odors in infants: influence of previous sensory exposures

En préparation pour Pediatrics

#### Liking of food odors in infants: influence of previous sensory exposures

Sandra Wagner<sup>123</sup>, MSc, Sylvie Issanchou<sup>123</sup>, PhD, Claire Chabanet<sup>123</sup>, BS, Christine Lange<sup>123</sup>, PhD, Benoist Schaal<sup>123</sup>, PhD, Sandrine Monnery-Patris<sup>123</sup>, PhD

**Affiliations:** <sup>1</sup>CNRS, UMR6265 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, Dijon, France ; <sup>2</sup>INRA, UMR1324 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, Dijon, France ; <sup>3</sup>Université de Bourgogne, UMR Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, Dijon, France

Short title: Early exposures can influence later odor liking

**Key words**: *in utero* exposure, breastfeeding, complementary feeding, flavors, odor liking, infants

#### What's Known on This Subject:

Infant's flavor experience begins well before the introduction of complementary foods. Early exposures, i.e. *in utero*, during breastfeeding, or complementary feeding, to a specific odor have an influence on the liking of this particular odor later in life.

#### What This Study Adds:

This study followed longitudinally a cohort of infants and highlights the importance of the natural early exposures to some food odors, i.e. during pregnancy, breastfeeding, and complementary feeding, on infants' liking of these odors at 8 and 12 months.

#### Abstract

**Background (and Objectives):** Infant's flavor experience begins before birth and extends after birth notably *via* human milk, and during complementary feeding. Early exposures to a specific odor have an influence on later acceptance of this odor.

This study aimed at understanding the influence of early odor exposures, assessed through spontaneous mothers' and infants' food consumption, on infants' odor liking at 8 and 12 months. Early exposures were investigated during 3 periods: *in utero*, during breastfeeding and during complementary feeding.

**Methods:** To assess infants' early food exposures, mothers were asked to fill in diaries about their food consumption during pregnancy and breastfeeding, and the food consumption of their infant during complementary feeding. To test odor liking, 8 odorants representing pleasant and unpleasant food odors, as well as odorless stimuli, were presented in bottles. The infant's exploratory behavior toward odorized and non-odorized control bottle was measured in terms of mouthing duration, supposed to reflect attraction toward the stimuli.

**Results**: At 8 months only, positive correlations were found between liking of some unpleasant odors and early exposures to these odors through mother's diet. No correlations were found between liking of pleasant odors and early exposures to the foods bearing these odors.

**Conclusions:** Our finding highlights the importance of early exposures to unpleasant food odors to promote liking of these odors at 8 months.

#### INTRODUCTION

Infants' first flavor experiences begin well before the introduction of solid foods. Aroma compounds from mother's diet can be transmitted to amniotic fluid and to mother's milk, and altered the sensory characteristics of these fluids [1-3]. Besides, odor perceived *in utero* or during breastfeeding can positively influence infant later behavior, notably hedonic responses towards these odors [4-6]. So far, scarce are the studies focusing on the influence of early exposures on odor liking. Yet, the sense of smell is an important gatekeeper of oral behavior which precedes perception of taste. It is well-known that food odors have an impact on appetite [7]. Odors also impact the physiological responses to prime the body to the ingestion of foods by increasing salivation flow rate [8-10], or by modulating the secretion of appetite regulating hormones such as ghrelin [11, 12]. It has also been shown that olfactory responses, i.e. liking or sensitivity, may be linked to food liking or consumption [13-15]. Thus, olfaction has a crucial role in eating behavior. Since, in childhood, food liking is mostly guided by sensory attributes, it appears important to understand the influence of early exposures on food odor liking.

The aim of the present study was to investigate the influence of early exposures during 3 target periods that are *in utero*, breastfeeding, complementary feeding, on food odor liking assessed at 8 and 12 months. In France, at 8 months, 100% of the infants have consumed foods others than human or formula milk [16]. Around the age of 12 months, infants' food repertoire is progressively moving from baby foods to table foods [17]. Thus, 8 and 12 months constitute two key ages of food repertoire establishment. In our study, unlike most of the experimental studies available in the literature, mothers were not asked to consume any food with specific flavor during pregnancy or breastfeeding. Here, uterine exposures were inferred from natural consumption of the mothers during the last months of pregnancy. In the same vein, breast milk exposures were inferred from natural consumption of the mothers

during breastfeeding period. Finally, exposures during complementary feeding were assessed by recording direct infants' consumption during this period. Moreover, to have a global overview of the influence of exposures, a wide range of stimuli covering several food categories was investigated. Since the few studies available in the literature suggest beneficial effects of early exposures on later odor liking in infants, we hypothesized that the exposures to foods during the 3 periods described above lead to higher attraction toward the corresponding odors.

#### **METHODS**

#### Context and ethical condition

The present data were collected in the context of a larger program, named OPALINE (Observatory of food preferences in infants and children), which aimed at understanding the formation of food preferences from birth up to two years of age. Participating mothers were recruited before or during the last trimester of pregnancy using leaflets left at health professionals and in daycare centers. To be included in the cohort, both parents had to have reached 18 years old (legal majority), and infants had to be in good health at birth. The aims and methods of the study were explained to both parents in great details. Written and informed consent was obtained from both parents for all infants.

The study was conducted according to the Declaration of Helsinki, and was approved by the local ethical committee (Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale de Bourgogne).

#### **Participants**

Mother/infant dyads (n=235) participated in the olfactory test at the laboratory when the infants were 8 months old, and then when they were 12 months old (mean age  $\pm$  SD: 239  $\pm$  13

days; and  $372 \pm 12$  days, respectively). There were in good health at each moment of the olfactory test, in particular they did not present any otorhinolaryngological infection. The analysis in the following section focused on the infants whose mothers gave us complete information about their food consumption during pregnancy and breastfeeding, and about their infant food consumption during complementary feeding (n=100 at 8 months, among them 71 had complete data at 12 months). Infants' and mothers' characteristics are listed in **Table 1**.

**Table 1**. Infants' and mothers' characteristics<sup>a</sup>

Infants' characteristics	
Gender (girl:boy)	42:58
Milk feeding mode at birth (N)	
Exclusively bottle-fed	12
Exclusively breastfed	88
Duration of exclusive breastfeeding (mean day $\pm$ SD)	$90 \pm 60$
Duration of total breastfeeding (mean day $\pm$ SD)	$170 \pm 152$
Age (mean day $\pm$ SD) at the beginning of	$164 \pm 27$
complementary feeding period	
Mothers' characteristics	
Age (mean year ± SD) <sup>b</sup>	32 ± 4
% of caesarean section	19

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>These characterictics are those of the 8-month-old infants and of their mothers.

#### Measurement of odor liking at the age of 8 and 12 months

The olfactory tests are fully described elsewhere [18] and summarized below.

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup>The age reported in the table is the age of the mothers at the moment of the first olfactory test (8 months).

#### Olfactory stimuli

The stimuli consisted in 8 odorants representing diverse foods. Four odorants (strawberry aroma, peach/apricot aroma, apple aroma, vanillin) represented food odors that were considered as a *priori* pleasant, and 4 odorants (2-isobutyl-3-methoxypyrazine, trimethylamine, dimethyl disulfide, butyric acid) represented food odors that were considered as *a priori* unpleasant. Control stimuli were also used and consisted in mineral oil. All the stimuli were presented in nipple-less, transparent infant-ergonomic bottles (12 x 6 cm, opening diameter of 2.3 cm; Tex, Carrefour, France).

#### Procedure of the olfactory tests

Infants were individually welcomed in a room especially dedicated to infant testing in the presence of one of their parents. To control the infants' hunger state, parents were asked not to feed their infants 1.5 hour before the test. Compliance with this instruction was checked before the beginning of the session by asking the parent when their last infant's meal occurred. A familiarization phase took place before the beginning of the test in order to accustom the infants to the room and the experimenters. The bottles were individually and successively presented to the infants in sequences of 3 bottles: control, followed by a pleasantly odorized bottle and then an unpleasantly odorized bottle. A session was composed of 4 sequences. Each bottle was presented individually during 60 s with a 15 s break between bottles. A 5 to 15 min break occurred after the presentation of the second sequence.

#### Behavioral analyses

All tests were videotaped in order to analyze the infants' spontaneous exploratory behavior toward the bottles. We focused on mouthing behavior which was defined as direct contact between the infant's perioral and/or perinasal areas with the opening of the bottle. The videos were analyzed frame-by-frame using the Observer software (Noldus, Wageningen, The Netherlands) to measure the duration of mouthing behavior of infants toward the test bottles. Each mouthing duration was corrected by the duration of inaccessibility of the bottle (e.g., if the bottle drop onto the floor).

For each odorant, corrected durations were converted into odor liking scores defined as the ratio between corrected duration for the odorized bottle and the sum of corrected durations for the odorized bottle and the corresponding control bottle in the sequence.

A score of 0.5 indicates an indifference to the odorant. A score higher than 0.5 indicates an attraction while a score lower than 0.5 indicates an avoidance of the odorant compared to the control. The score has not been calculated when the control bottle was not mouthed in order to avoid noise in the data. Indeed, in this case, the score does not depend on the duration of mouthing of the odorized bottle, and is systematically equal to 1. Avoiding noise in the data gives more power for assessing the links between early exposures and infants' odor liking.

#### Measurement of early exposures through food consumption

Recording mothers' and infants' diets

In order to investigate infants' early exposures *in utero*, through mothers' milk, and through feeding with solid foods, food consumption was measured during three target periods: pregnancy, breastfeeding, and complementary feeding.

In order to assess their food consumption during pregnancy and breastfeeding, mothers were asked to complete precisely food diaries. They were invited to indicate qualitatively all the

foods they consumed, one week during the 8<sup>th</sup> month of pregnancy and each week during the 9<sup>th</sup> month varying between 0 and 4 according to infants' birth. They were also asked to complete the diaries one week per month during breastfeeding. For the analysis, we focused on the breastfeeding period going from birth to 7 months included, in order to consider all exposures up to the first olfactory test at 8 months.

When infants began complementary feeding, the mothers were asked to complete diaries about their infants' consumption, one week per month. They were asked to report all the foods consumed by their infants. As olfactory tests occurred at 8 and 12 months, we focused on two periods: one period going from the beginning of complementary feeding to 7 months included, and a second period going from the beginning of complementary feeding to 11 months included.

All the diaries were organized by day (7 consecutive days) and by meal. A very detailed description of the meal was asked to allow precise characterization of taste and flavor of each food composing a meal. Mothers were asked to give details about the ingredients and seasonings for home-made preparations, and they were invited to stick on the label with recipe for commercial dishes. The tool used for food consumption recording during pregnancy was already described [19]. The same diaries were used for breastfeeding and similar ones for the complementary feeding period. The instructions were given in details to the mothers during individual sessions. The diaries included written instructions with examples.

#### Selection of food items for inferring odor exposure

To study the links between food exposures during the 3 periods studied and odor liking assessed at 8 and 12 months, the foods which carried dominant odor qualities that correspond to the tested odorants were extracted from the diaries. For each food category and each period,

the number of times a food of the category was consumed was calculated. For sake of simplicity, this number of occurrences will be called "exposure" in the following parts. For apple, strawberry, peach/apricot and vanilla odorants, the foods items containing apple, strawberry, peach, apricot or vanilla were selected from the diaries. For the other odorants, three chemical data bases of volatile compounds were systematically screened: the Flavor-Base<sup>©</sup> 2010 (http://www.leffingwell.com), the VCF Database 14.1 available through TNO Triskelion (VCF Volatile Compounds in Food), and the INRA-CSGA database. Each odorant was associated to one food category, except dimethyl disulfide which was associated to two food categories. The correspondences between odorants and foods containing each studied odorant are presented in **Table 2**.

Table 2. Correspondences between odorants and foods containing each studied odorant

Odorants	Food category	Selected foods
Vanillin	Vanilla desserts	Food items containing vanilla
Apple	Apple products	Food items containing apple
Peach/apricot	Peach or apricot products	Food items containing peach or apricot
Strawberry	Strawberry products	Food items containing strawberry
Trimethylamine	Fishes	Dried cod, whitefish, herring in oil, dog fish, fresh salmon, tuna, sardine, mackerel, fish soup, shellfish, sea shell, breaded fish
Butyric acid	Butyric cheeses	Raclette, Emmental, Gruyère, Comté, Beaufort, Mont d'or, Saint Marcellin, Camembert, Brie, Cantal, Morbier, Tomme, Saint Nectaire, Munster, Epoisses, blue cheese, Cancoillotte, sheep cheese, Bonbel <sup>®</sup> , Babybel <sup>®</sup> , Port Salut <sup>®</sup>
Dimethyl disulfide	Sulfurous cheeses	Garlic and chives cheese, Cancoillotte, Camembert, Munster, Epoisses, blue cheese.
Dimethyl disulfide	Cruciferous vegetables	Broccoli, cabbage, cauliflower, Brussels sprouts, leek, chive, garlic, onion, shallot, capers
2-isobutyl-3-methoxypyrazine	Green vegetables	Green pepper, green bean, salad, peas

### Statistical analysis

Odor liking

At each time-point, individual median odor liking scores for pleasant and unpleasant odors were calculated. A paired Wilcoxon test was performed to assess whether the median odor liking scores were significantly different between unpleasant and pleasant odors. Kendall correlations were calculated to assess whether odor liking scores at 8 and 12 months were correlated (unilateral tests).

Early exposures inferred from mothers' consumption

In order to assess exposure continuity during pregnancy and breastfeeding, Kendall correlations were calculated between the exposure of each food category during pregnancy and breastfeeding.

Link between odor liking and early exposures

The links between exposures to each food category during each period and odor liking scores of the related odorant at 8 months (and 12 months) were assessed by performing Kendall correlations. According to our hypotheses, i.e. positive correlations were expected between exposure and odor liking score, unilateral tests were performed.

The statistical analyses were carried out with R version 3.0.1.

### **RESULTS**

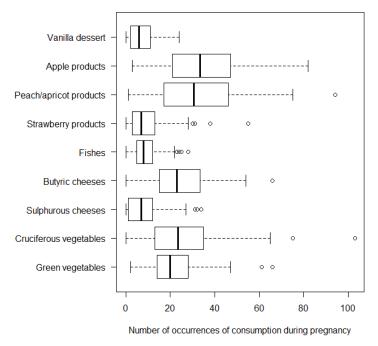
### **Odor liking**

Results showed that bottles containing unpleasant odors were mouthed shorter than bottles containing pleasant odors at 8 months (P<0.01) and 12 months (P<0.01). This result suggests

that, from 8 months, infants can hedonically discriminate the odors. Moreover, no significant correlations were observed between odor liking scores at 8 months and those at 12 months (all P values >0.11). This result suggests intra-individual differences in the development of the hedonic odor perception (see [18] for a detailed discussion).

# Food exposures *in utero* and through mothers' milk inferred from mothers' consumption

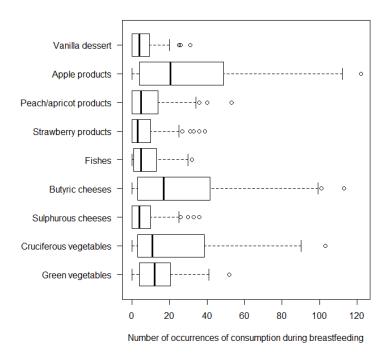
Amongst the target food categories, "apple products" was the most consumed food category by the mothers during pregnancy (mean occurrence: 34.5 (SD 18.2)), and "vanilla desserts" was the least consumed (mean occurrence: 7.2 (SD 6.0)) (**Figure 1**).



**Figure 1.** Number of occurrences of mothers' consumption for the different target food categories during the two last months of pregnancy which is supposed to reflect infants' *in utero* odor exposure.

During breastfeeding, the same result was found: the most consumed food category was "apple products" (mean occurrence: 30.2 (SD 30.9)), and the least one was "vanilla desserts" (mean occurrence: 6.2 (SD 6.8)) (**Figure 2**). It is worth to note that consumption during pregnancy and consumption during breastfeeding were correlated for each food category (all

p-values<0.01). This last result means that the mothers did not change significantly the quality of their diet between pregnancy and breastfeeding.



**Figure 2.** Number of occurrences of mothers' consumption for the different target food categories during breastfeeding which is supposed to reflect infants' odor exposure through human milk.

### Food exposures during complementary feeding

From the beginning of complementary feeding to 7 months, the food categories studied were introduced to at least 25% of the infants except for fishes, sulfurous cheeses and butyric cheeses which were only introduced to 9, 2 and 6 infants, respectively.

As found for very early exposures, infants were the most exposed to apple products (mean occurrence: 7.9 (SD 6.9)), and the least exposed to vanilla desserts (mean occurrence: 0.6 (SD 1.3)) (**Figure 3**). From the beginning of complementary feeding to 11 months, all the food categories studied were introduced to at least 89% of infants. Infants were the most exposed to apple products (mean occurrence: 25.6 (SD 11.3)), and the least exposed to sulfurous cheeses (mean occurrence: 0.3 (SD 1.3)) (**Figure 4**).

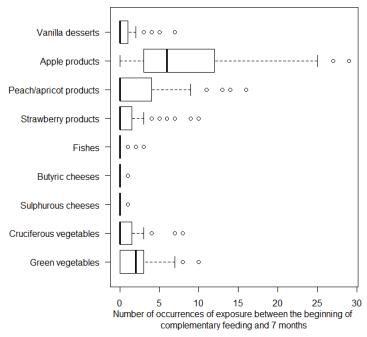


Figure 3. Food exposures between the beginning of complementary feeding and 7 months.

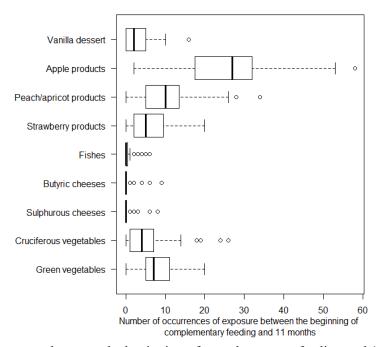


Figure 4. Food exposures between the beginning of complementary feeding and 11 months.

### Links between early exposures and odor liking

In utero

At 8 months, two significant correlations were found between exposures to green vegetable odor and the corresponding odor liking scores, and between exposures to sulfurous cheese odor and the corresponding odor liking scores (**Table 3**).

Only a marginal correlation was observed between exposures to butyric cheese odor and the corresponding odor liking scores at 12 months (**Table 4**).

### Through mothers' milk

At 8 months, two significant correlations were found between exposures to fish odor and the corresponding odor liking scores, and between exposures to green vegetable odor and the corresponding odor liking scores (**Table 3**).

No significant correlations were found between odor exposures during breastfeeding and the corresponding odor liking scores at 12 months.

### Complementary feeding

No significant correlations were found between food exposures during complementary feeding and odor liking scores neither at 8 nor 12 months (**Tables 3 and 4**).

For each studied period, no correlations were uncovered between exposures to foods bearing pleasant odors and the liking to the corresponding odors.

**Table 3.** Kendall correlations (unilateral tests) between olfactory scores to the odorant at 8 months and food early exposures

Odorants	Food category	Infants*	Pregnancy		Breastfeeding		Weaning	
			τ	P value	τ	P value	τ	P value
Trimethylamine	Fishes	65	0.10	0.88	0.17	0.02	-0.20	0.98
Butyric acid	Cheeses	72	0.03	0.36	0.01	0.46	<b>-</b> 0.11	0.88
Dimethyl Disulfide	Sulfurous cheeses	74	0.15	0.03	-0.08	0.82	-0.04	0.66
Dimethyl Disulfide	Cruciferous vegetables	74	-0.05	0.72	-0.08	0.84	-0.12	0.91
2-isobutyl-3- methoxypyrazine	Green vegetables	68	0.27	<0.001	0.14	0.05	-0.08	0.82

Significant results are in bold.

**Table 4.** Kendall correlations (unilateral tests) between olfactory scores to the odorant at 12 months and food early exposures

Odorants	Food category	Infants*	Pregnancy		Breastfeeding		Weaning	
			τ	P value	τ	P value	τ	P value
Trimethylamine	Fishes	52	0.07	0.25	-0.02	0.56	-0.06	0.70
Butyric acid	Cheeses	51	0.13	0.10	-0.005	0.52	-0.10	0.80
Dimethyl Disulfide	Sulfurous cheeses	51	-0.15	0.93	-0.16	0.94	-0.14	0.88
Dimethyl Disulfide	Cruciferous vegetables	51	-0.24	0.99	-0.27	0.99	-0.16	0.95
2-isobutyl-3- methoxypyrazine	Green vegetables	47	-0.07	0.76	0.007	0.47	-0.16	0.94

<sup>\*</sup>The number of infants varied between 47 and 52 for two reasons (see Table 3).

<sup>\*</sup>The number of infants varied between 65 and 74 for two reasons. First, in some cases, infants did not complete the olfactory test, thus data were missing for some odorants. Second, sometimes during the olfactory test, the control bottle of a sequence was not mouthed; then, the score was not calculated for the odorant of the same sequence, leading to missing data.

### **DISCUSSION**

This study aimed to investigate infants' odor liking, infants' early exposures, and to understand the influence of early exposures on odor liking by following longitudinally an infant cohort. We hypothesized that the exposures to food odors during each period studied lead to higher attraction toward the related odors. Our results showed that exposures to unpleasant food odors *in utero* and during breastfeeding are linked to liking toward the corresponding odors at 8 months, but not at 12 months. However, no links were observed between food exposures during complementary feeding and odor liking neither at 8 months nor at 12 months. No links were found between exposures to foods bearing pleasant odors and liking to the relative odors. Thus, the results of the present study supported partially our hypothesis.

# Links between very early exposures, i.e. *in utero* and during breastfeeding, and odor liking at 8 months

Links were not uncovered between early exposures to pleasant food odors and liking to the associated pleasant odors. In our study, most of the pleasant odors were fruity odors. It was shown that one compound of fruity odors, an ester, was weakly transferred to human milk [20]. Nevertheless, it was shown that breastfed infants accepted more peaches when first introduced compared to bottle-fed infants [21]. The authors explain this enhanced acceptance by the fact that the breastfeeding mothers ate more fruits than non-breastfeeding mothers. However, the enhanced acceptance of the tested fruit could simply be due to the breastfeeding itself since it is well established that breastfeeding facilitates the acceptance of new foods [22, 23].

By contrast, early exposures, *in utero* or through mother's milk, to green vegetable odor, has a positive influence on the infants' liking of the corresponding unpleasant odor at 8 months. Our results are supported by the fact that 2-isobutyl-3-methoxypyrazine, the compound used to represent green vegetable odor, was found in human milk [24]. However, Forestell and Mennella (2007) did not highlight an influence of exposures, through mothers' milk, to green beans on the acceptance of this vegetable during complementary feeding. However, the authors explained the absence of effect by a low level of consumption of green beans by the mothers. As their study assessed the acceptance of the green beans themselves, it is also possible that other factors, such as taste, could have affected the acceptance of this vegetable. Our results also highlight that early exposures to cheese odor (*in utero*) and fish odor (through mother milk) have a positive influence on the infants' liking of the corresponding odor at 8 months. Until now, the compounds related to the studied odors, i.e. dimethyl disulfide for cheese odor and trimethylamine for fish odor, have not been identified in amniotic fluid or human milk. Our findings suggest that these compounds can be transferred to these fluids, and that there are probably difficult to identify by the current methods of detection.

### Links between exposures during complementary feeding and odor liking at 8 months

Our study did not highlight any links between food exposures during complementary feeding and odor liking at 8 months. It may be possible that no links were observed because the delay elapsed between food exposures and the olfactory test was short. In the literature, it was shown that when the delay between the end of exposure and the test was short, i.e. less than 4 days, a negative effect on the relative food acceptance was observed [25, 26]. This negative effect was explained by a sensory specific satiety which is defined as a short-term decrease of preferences for a food consumed recently [25].

### Absence of links between early exposures and odor liking at 12 months

No links were observed between early food exposures and odor liking at 12 months. As noted above, the delay between the end of exposure and the olfactory test could have been short resulting in a sensory specific satiety. Another explanation could be that early exposures have an influence limited in time on the acceptance of odors during complementary feeding. This observation is supported by the literature which demonstrated that breastfeeding confers an initial advantage on food acceptance during complementary feeding, but this advantage disappears when other promoting strategies enabling infants to experience flavor are used, such as repeated exposures [22].

#### **CONCLUSION**

Our study followed longitudinally an infant cohort and highlights positive influence of early exposures to food odors, through spontaneous maternal food consumption, on liking of the corresponding odors later in life. Our finding highlights the importance of the early exposures to green vegetable, sulfurous cheese and fish odors *in utero* and/or during breastfeeding to enhance acceptance of these odors at the beginning of complementary feeding, which could promote the acceptance of the foods bearing these odors.

### REFERENCES

- 1. Hauser GJ, Chitayat D, Berbs L *et al.* Peculiar odors in newborns and maternal prenatal ingestion of spicy foods. *European Journal of Pediatrics* 1985; 144(4):403.
- 2. Hausner H, Philipsen M, Skov TH *et al.* Characterization of the volatile composition and variations between infant formulas and mother's milk. *Chemosensory Perception* 2009; 2(2):79-93.
- 3. Mennella JA, Beauchamp GK. Maternal diet alters the sensory qualities of human milk and the nursling's behavior. *Pediatrics* 1991; 88(4):737-744.
- 4. Hepper PG. Human fetal "olfactory" learning. *International journal prenatal and perinatal psychology and medecine* 1995; 7:147-151.
- 5. Mennella JA, Jagnow CP, Beauchamp GK. Prenatal and postnatal flavor learning by human infants. *Pediatrics* 2001; 107(6):e88.
- 6. Schaal B, Marlier L, Soussignan R. Human foetuses learn odours from their pregnant mother's diet. *Chemical Senses* 2000; 25(6):729-737.
- 7. Yeomans MR. Olfactory influences on appetite and satiety in humans. *Physiology & Behavior* 2006; 87(4):800-804.
- 8. Pangborn RM, Witherly SA, Jones F. Parotid and whole-mouth secretion in response to viewing, handling, and sniffing food. *Perception* 1979; 8:339-346.
- 9. Spence C. Mouth-watering: the influence of environmental and cognitive factors on salivation and gustatory/flavor perception. *Journal of Texture Studies* 2011; 42:157–171.
- 10. Albrecht J, Schreder T, A.M. K *et al.* Olfactory detection thresholds and pleasantness of a food-related and a non-food odour in hunger and satiety. *Rhinology* 2009; 47:160-165.
- 11. Mattes RD. Physiologic Responses to Sensory Stimulation by Food: Nutritional Implications. *Journal of the American Dietetic Association* 1997; 97(4):406-413.
- 12. Massolt ET, van Haard PM, Rehfeld JF *et al*. Appetite suppression through smelling of dark chocolate correlates with changes in ghrelin in young women. *Regulatory Peptides* 2010; 161(1–3):81-86.
- 13. Engel E, Martin N, Issanchou S. Sensitivity to allyl isothiocyanate, dimethyl trisulfide, sinigrin, and cooked cauliflower consumption. *Appetite* 2006; 46(3):263-269.
- 14. Font-i-Furnols M. Consumer studies on sensory acceptability of boar taint: A review. *Meat Science* 2012; 92(4):319-329.
- 15. Jaeger SR, Pineau B, Bava CM *et al.* Investigation of the impact of sensitivity to cis-3-hexen-1-ol (green/grassy) on food acceptability and selection. *Food Quality and Preference* 2012; 24:230-242.
- 16. Turberg-Romain C, Lelievre B, Le Heuzey M-F. Conduite alimentaire des nourrissons et jeunes enfants âgés de 1 à 36 mois en France : évolution des habitudes des mères (Evolution of feeding behavior in mothers of infants and young children from 1 to 36 months old in France). *Archives de Pédiatrie* 2007; 14:1250-1258.
- 17. Briefel RR, Reidy K, Karwe V *et al.* Toddlers' transition to table foods: Impact on nutrient intakes and food patterns. *Journal of the American Dietetic Association* 2004; 104(1):S38-S44.
- 18. Wagner S, Issanchou S, Chabanet C *et al.* Infants' hedonic responsiveness to food odours:a longitudinal study during and after weaning (8, 12 and 22 months). *Flavour* 2013; 2:19.
- 19. Lange C, Laval C, Boggio V *et al*: A tool for characterizing a diet in terms of sensory variety and flavour exposure. In: 7<sup>th</sup> Pangborn Sensory Science Symposium: August 12-16, 2007; Minneapolis, USA.

- 20. Hausner H, Bredie WLP, Mølgaard C *et al.* Differential transfer of dietary flavour compounds into human breast milk. *Physiology & Behavior* 2008; 95(1-2):118-124.
- 21. Forestell CA, Mennella JA. Early determinants of fruit and vegetable acceptance. *Pediatrics* 2007; 120(6):1247-1254.
- 22. Hausner H, Nicklaus S, Issanchou S *et al.* Breastfeeding facilitates acceptance of a novel dietary flavour compound. *Clinical Nutrition* 2010; 29(1):141-148.
- 23. Maier AS, Chabanet C, Schaal B *et al*. Breastfeeding and experience with variety early in weaning increase infants' acceptance of new foods for up to two months. *Clinical Nutrition* 2008; 27(6):849-857.
- 24. Buettner A. A selective and sensitive approach to characterize odour-active and volatile constituents in small-scale human milk samples. *Flavour and fragrance journal* 2007; 22:465-473.
- 25. Mennella JA, Beauchamp GK. Experience with a flavor in mother's milk modifies the infant's acceptance of flavored cereal. *Developmental Psychobiology* 1999; 35(3):197-203.
- 26. Mennella JA, Kennedy JM, Beauchamp GK. Vegetable acceptance by infants: Effects of formula flavors. *Early Human Development* 2006; 82(7):463-468.

## Que retenir de l'étude de l'impact des expositions aromatiques précoces sur les réponses olfactives ?

L'exposition aromatique précoce *in utero* ou *via* le lait maternel a été estimée à partir de la consommation de la mère durant la grossesse ou l'allaitement. A 8 mois, des corrélations ont été mise en évidence entre :

- l'exposition précoce *in utero* et *via* le lait maternel aux arômes de légumes verts et les réponses envers les odeurs de légumes verts,
- l'exposition précoce *in utero* aux arômes de fromages soufrés et les réponses envers les odeurs de fromages soufrés,
- l'exposition précoce *via* le lait maternel aux arômes de poissons et les réponses envers les odeurs de poissons.

Il est intéressant de noter que les corrélations observées concernent uniquement les odeurs désagréables. Aucune relation n'a été mise en évidence entre les expositions aromatiques précoces et les réponses envers les odeurs agréables.

Aucun lien n'a été mis en évidence entre les expositions alimentaires durant la période de diversification et les réponses olfactives à 8 mois. Il se peut que cette absence de lien soit liée au fait que les expositions alimentaires étaient relativement peu espacées du test olfactif. En effet, ce court délai aurait entraîné un effet négatif lié à une lassitude ou un rassasiement sensoriel spécifique contrebalançant un potentiel effet positif de la familiarisation *via* l'exposition alimentaire.

Il apparaît que les expositions précoces n'ont pas d'impact sur les réponses olfactives à 12 mois. Ainsi, les expositions aromatiques précoces auraient un impact positif sur les réponses olfactives uniquement en début de diversification alimentaire.

# **Chapitre 5**

Relation entre réponses olfactives et comportement alimentaire

Le présent chapitre relatant les liens entre les réponses olfactives et le comportement alimentaire sera découpé en 3 parties :

- la première partie portera sur les liens entre les réponses olfactives au début de la diversification alimentaire et l'appréciation des nouveaux aliments introduits lors de cette période,
- 2) la seconde partie abordera les liens entre réponses olfactives et l'appréciation des aliments au cours de la seconde année de vie (article 3),
- 3) la troisième se focalisera sur les liens entre le degré de néophobie alimentaire de l'enfant et sa réactivité chimiosensorielle (article 4).

# 1. Lien entre réponses olfactives à 8 mois et appréciation des nouveaux aliments introduits

### 1.1. Introduction

A partir de 6 mois, les apports nutritionnels et énergétiques du lait maternel ne sont plus suffisants pour couvrir les besoins des nourrissons, il est ainsi nécessaire de compléter l'allaitement avec des aliments dits « de compléments » (Briend, 2009). La transition d'aliments exclusivement lactés à des aliments solides présentant des qualités sensorielles variées, appelée diversification alimentaire, est une étape importante dans la vie du nourrisson. En effet, cette transition est la première étape vers un régime alimentaire proche de celui de l'adulte. Sachant que le comportement alimentaire au cours de la petite enfance est lié au comportement alimentaire au cours de l'enfance, de l'adolescence et du jeune adulte (Nicklaus *et al.*, 2005a; Skinner *et al.*, 2002), il est apparu important de comprendre les déterminants précoces, notamment sensoriels, de la formation du comportement alimentaire.

Au moment de la diversification alimentaire, certains aliments, comme les purées de tomates/courgettes, sont acceptés plus facilement que d'autres, par exemple les purées d'artichauts (Maier *et al.*, 2007a). Bon nombre d'études se sont intéressées aux facteurs pouvant favoriser l'acceptation des aliments, notamment des légumes, lors de cette période. Ainsi, les rôles des pratiques alimentaires, de l'allaitement et des expositions répétées ont été mis en avant pour favoriser l'acceptation d'aliments recommandés « sains » comme les légumes (Maier *et al.*, 2008; Mennella *et al.*, 2008; Schwartz *et al.*, 2011b; Sullivan & Birch,

1994). Or, peu d'études se sont intéressées aux facteurs pouvant expliquer l'acceptation ou le rejet des aliments per se, en particulier au moment de leur introduction. Des facteurs liés aux qualités sensorielles (gustative ou olfactive) des aliments pourraient impacter leur acceptation (Schwartz et al., 2011a). Une étude menée dans le cadre d'OPALINE (Schwartz et al., 2011a) a mis en évidence, chez les enfants de 5-7 mois, une relation entre les préférences pour une solution sucrée et l'appréciation d'aliments sucrés nouvellement introduits (fruits sucrés ou de céréales/dessert), ainsi qu'une relation entre les préférences pour une solution acide et l'acceptation d'aliments acides nouvellement introduits (fruits acides). Une relation entre les préférences pour une solution acide et l'acceptation d'aliments acides a également été mise en évidence chez l'enfant de 18 mois (Blossfeld et al., 2007) et de 8-11 ans (Liem et al., 2006). La réticence des enfants de 3-4 ans à consommer certains légumes pourrait être due à leurs composantes amères (Bell & Tepper, 2006). En revanche, il n'a pas été observé de lien entre la composante amère des légumes et l'acceptation d'aliments au moment de la diversification alimentaire (Schwartz et al., 2011a). Cette absence de lien pourrait s'expliquer, d'une part, par le fait que les aliments infantiles sont relativement peu amers et, d'autre part, par le fait que les parents tendent à éviter d'offrir à leur enfant des aliments amers, au début de la période de diversification alimentaire (Schwartz et al., 2010). L'explication de l'absence de lien due à la faible amertume est renforcée par le fait que des formules infantiles très amères, i.e. les laits hypoallergéniques, sont difficilement acceptées après l'âge de 3,5 mois (Mennella et al., 2011). Concernant le rôle des odeurs sur l'appréciation ou la consommation alimentaire, peu d'études se sont intéressées à la période de l'enfance. Il a été mis en évidence qu'une sensibilité sensorielle élevée, évaluée par questionnaire, est liée à une faible consommation de fruits et légumes chez les enfants de 2 à 5 ans (Coulthard & Blissett, 2009). En revanche, une étude menée avec des enfants et adolescents de 6 à 16 ans n'a pas mis en exergue de lien entre la sensibilité à la triméthylamine, un composé en partie responsable de l'odeur du poisson, et l'appréciation ou la consommation de poissons (Solbu et al., 1990). A notre connaissance, aucune étude à ce jour ne s'est intéressée au rôle des odeurs sur l'acceptation d'aliments nouvellement introduits. Pourtant, la prime enfance, notamment la diversification alimentaire, est une période où l'appréciation alimentaire de l'enfant est largement guidée par des attributs sensoriels.

En France, à 8 mois, les nourrissons ont tous commencé la diversification alimentaire (Turberg-Romain *et al.*, 2007). Dès lors, nos objectifs ont été d'étudier :

- l'appréciation d'aliments nouvellement introduits à 8 mois,

- les liens entre les réponses olfactives des nourrissons face à des odeurs alimentaires à 8 mois, décrites dans le chapitre 3, et l'appréciation d'aliments nouvellement introduits au moment de la diversification alimentaire. Notre hypothèse est que plus le nourrisson manifeste un attrait pour l'odeur, plus il appréciera les aliments porteurs de cette odeur lors de la période de diversification alimentaire.

### 1.2. Matériel et méthode

**Participants** 

Les participants aux tests olfactifs sont ceux décrits dans le chapitre 2.

Procédure

La procédure utilisée pour évaluer les réponses olfactives à 8 mois est celle détaillée dans le chapitre 2. Des scores olfactifs ont été calculés pour chacune des odeurs testées comme décrits précédemment. Le score n'a pas été pris en compte lorsque le biberon contrôle du triplet n'a pas été mis en bouche. En effet, dans ce cas, le score ne dépend pas de la durée de mise en bouche des biberons odorisés et est systématiquement égal à 1. Ce choix a été réalisé en vue d'éviter d'avoir des données bruitées et ainsi avoir plus de puissance lors de l'étude des liens entre réponses olfactives et appréciation alimentaire<sup>9</sup>.

La méthode d'évaluation de l'appréciation des aliments a également été exposée dans le chapitre 2. Le présent travail se focalise sur la première introduction des aliments lors de la période concomitante aux tests olfactifs réalisés à 8 mois, c'est-à-dire la période 8-10 mois. Les notes d'appréciation attribuées à chaque aliment nouvellement introduit par les mamans ont été converties en scores d'appréciation allant de -3, -1, 1 à 3. Pour chaque enfant et chaque catégorie d'aliments, nous avons moyenné les scores d'appréciation pour l'ensemble des aliments de chacune des catégories (voir Tableau 6 dans le chapitre 2).

109

<sup>&</sup>lt;sup>9</sup> Cette méthodologie a également été utilisée pour l'étude des relations entre réponses olfactives et appréciation des aliments à 12 et 22 mois qui fait l'objet de l'article 3, présenté page 112.

Analyses statistiques

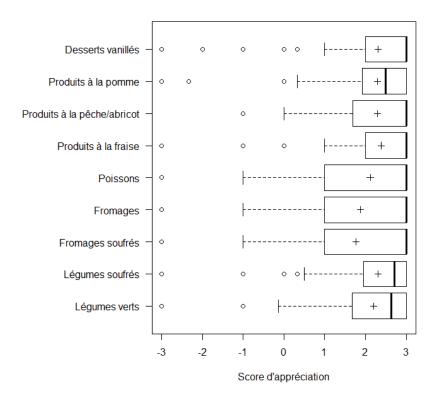
Les analyses statistiques ont été menées avec R version 3.0.1 (R Core Team, 2013). Des corrélations de Kendall ont été réalisées pour évaluer si les réponses à une odeur à 8 mois étaient liées à l'appréciation des aliments porteurs de ces odeurs durant la période 8-10 mois.

### 1.3. Résultats

Appréciation des aliments nouvellement introduits durant la période 8-10 mois

La plupart des catégories d'aliments ont été consommées par au moins la moitié des nourrissons. Les pourcentages d'enfants ayant consommé chacune des catégories d'aliments sont les suivants (par ordre croissant) : 15% pour la catégorie fromages soufrés, 31,9% pour la catégorie fromages, 51,1% pour les desserts vanillés, 51,5% pour les poissons, 57,4% pour les produits à la fraise, 69,9% pour les légumes soufrés, 71,1% pour les produits à la pêche/abricot, 74,5% pour les légumes verts et 80,9% pour les produits à la pomme.

Globalement lors de leur première introduction, les aliments ont été appréciés (Figure 16). La catégorie d'aliments ayant le score d'appréciation le plus faible est la catégorie des fromages soufrés avec un score moyen de 1,77 ( $\pm$  SD 1,88). Il convient de noter que bien que ce soit la catégorie la moins appréciée, le score moyen d'appréciation est élevé et, selon un test de Wilcoxon, reste significativement supérieur à 0 (p<0.001), 0 représentant la neutralité envers les aliments. La catégorie d'aliments ayant le score d'appréciation le plus élevé est la catégorie des produits à la fraise avec un score moyen de 2,39  $\pm$  1,1.



**Figure 16.** Distribution des scores d'appréciation pour chaque catégorie d'aliments nouvellement introduits durant la période 8-10 mois.

+ représente la moyenne des scores d'appréciation. La catégorie fromage comporte tous les fromages ayant une note butyrique décrits dans le chapitre 2.

Relation entre réponses olfactives à 8 mois et appréciation des aliments nouvellement introduits à 8-10 mois

Quel que soit l'odorant considéré, les réponses olfactives à 8 mois ne sont pas corrélées à l'appréciation des aliments nouvellement introduits durant la période 8-10 mois (Tableau 7).

**Tableau 7.** Corrélations de Kendall entre les scores olfactifs à 8 mois et les scores d'appréciation des aliments nouvellement introduits à 8-10 mois.

Odorant	Catégorie d'aliments	Nombre maximal d'aliments introduits	Nombre moyen d'aliments introduits	τ Kendall	P	Nombre de nourrissons
Vanille	Desserts vanillés	6	0,9	-0,02	0,59	84
Pomme	Produits à la pomme	46	5	0,06	0,16	132
Pêche/abricot	Produits à la pêche ou abricot	14	2,2	-0,11	0,95	117
Fraise	Produits à la fraise	9	1,16	-0,06	0,79	102
Triméthylamine	Poisson	11	0,98	0,08	0,17	77
Acide butyrique	Fromages	8	0,60	0,04	0,35	56
Disulfure de diméthyle	Fromages soufrés	5	0,19	-0,11	0,76	27
Disulfure de diméthyle	Légumes soufrés	25	3,3	-0,0005	0,50	117
2-isobutyl-3- methoxypyrazine	Légumes verts	23	3,7	-0,06	0,83	119

Le nombre de nourrissons varie entre 27 et 132 pour 3 raisons. 1) Certains nourrissons n'ont pas consommé certaines catégories d'aliments, ainsi les scores d'appréciations n'étaient pas disponibles 2) Dans certains cas, les nourrissons n'ont pas réalisé l'intégralité du test olfactif, ainsi des données sont manquantes pour certains odorants. 3) Durant le test olfactif, le biberon contrôle n'a pas été mis en bouche. Dans ce cas, les scores n'ont pas été pris en compte pour l'odorant du même triplet menant à des données manquantes.

### 1.4. Discussion

Appréciation des aliments nouvellement introduits durant la période 8-10 mois

Le présent travail indique que les nourrissons de 8 à 10 mois ont une appréciation relativement élevée des aliments nouvellement introduits. La littérature décrit les deux premières années de vie comme étant une période propice à l'introduction de nouveaux aliments (Cashdan, 1994). Il a notamment été mis en évidence que les mères d'enfants de 6 à 12 mois rapportent une appréciation pour les légumes plus élevées que les mères d'enfants de

25 à 36 mois (Ahern *et al.*, 2013). La période de 6 à 12 mois, avant l'apparition de la néophobie et de la sélectivité alimentaire (Dovey *et al.*, 2008; Nicklaus, 2011) serait donc favorable à la diversification du régime alimentaire des enfants. Nos résultats corroborent ainsi ceux de la littérature en soulignant une forte appréciation des aliments nouvellement introduits lors de la période 8 à 10 mois.

Relation entre réponses olfactives à 8 mois et appréciation des aliments nouvellement introduits durant la période allant de 8 à 10 mois

Contrairement à notre hypothèse, cette étude n'a pas mis en évidence de relations entre les réponses olfactives à 8 mois et l'appréciation des aliments nouvellement introduits durant la période allant de 8 à 10 mois. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette absence de lien.

Il convient de noter que l'appréciation a été évaluée par les parents qui ont pu surestimer l'appréciation des aliments nouvellement introduits. Ce biais, souvent décrit sous le concept de désirabilité sociale, pourrait causer un effet plafond dans leurs réponses et ainsi être à l'origine de l'absence de liens constatée entre les réponses hédoniques rapportées par les parents et les réponses olfactives des nourrissons. Néanmoins, ce niveau d'acceptation élevé reste en accord avec les observations de la littérature, y compris celles basées sur les comportements d'ingestion des enfants (Remy *et al.*, 2013).

Durant la diversification alimentaire, une période favorable à l'introduction de nouveaux aliments, il est possible que la composante olfactive ait relativement peu d'impact sur l'appréciation des aliments nouvellement introduits. Nous pouvons émettre l'hypothèse que les nourrissons de 8 à 10 mois pourraient avoir une marge de tolérance élevée, sans pour autant être insensibles aux odeurs et arômes des aliments. Cette tolérance plus élevée permettrait l'introduction d'une vaste majorité d'aliments et ainsi la familiarisation du nourrisson avec ces aliments.

Cette étude visait à étudier les relations entre réponses olfactives et appréciation des aliments dans un contexte écologique. Ainsi, les résultats de cette étude reposent sur les aliments offerts, par les parents, aux enfants. Il est suggéré, dans la littérature, qu'au début de la diversification, la majorité des aliments sont sous formes de purées ou de soupes (Nicklaus, 2011; Turberg-Romain *et al.*, 2007). Dans notre étude, si nous prenons l'exemple des légumes verts, les aliments ont été présentés dans 37% des cas sous formes de purées. Nous avons pu noter 181 purées différentes. Les purées pouvaient être constituées d'un seul légume ou d'un

mélange de plusieurs aliments pouvant aller jusqu'à 7 composantes. Rappelons que nous avons considéré, dans nos analyses, un mélange dès lors qu'un de nos aliments cibles y était présent. Caton *et al.* (2011) soulignent, qu'en Angleterre, la pratique commune se veut d'offrir des mélanges de légumes aux enfants. Selon les auteurs, cette pratique peut conduire au masquage du goût véritable et de la texture des légumes. Cette hypothèse du masquage des notes aromatiques typiques d'un légume est soutenue par les résultats de la littérature indiquant que la présence de certaines notes aromatiques dans un mélange peut provoquer un effet de masquage des autres notes du mélange (*e.g.* Le Berre *et al.*, 2007; Ferreira, 2012 pour revue). Il convient également de noter que certains aliments à flaveurs prononcées, tels que les fromages soufrés, pouvant avoir des notes aromatiques potentiellement dominantes, n'ont été que très peu introduits (15%). De plus, il a été montré que les adultes peuvent seulement discriminer et identifier 3 à 4 odorants dans un mélange (Jinks & Laing, 2001; Laing, 1991; Laing, 1994). Bien que ce fait n'ait été mis en avant que chez l'adulte, nous pouvons suspecter une similarité chez l'enfant et pouvons supposer qu'à cause des effets de masquages, les notes aromatiques des mélanges ne soient pas toutes discriminées.

Il est également important de souligner que l'étude des réponses olfactives s'est basée sur l'utilisation d'odorants constitués soit d'un seul composé volatil soit d'un mélange de composés volatils représentant une note aromatique spécifique. Etant donné le caractère longitudinal de notre étude, nous avons privilégié l'utilisation d'odorants constitués d'un seul composé volatil afin d'avoir un stimulus stable au fil du temps. Ainsi, pour les légumes soufrés, par exemple, nous avons considéré la note soufrée comme étant la note aromatique typique de cette catégorie d'aliments. Toutefois, les aliments comprennent également d'autres notes aromatiques. Il est ainsi possible que dans un souci de reproductibilité, nous ayons perdu en représentativité de l'odeur en utilisant un seul composé odorant. Pourtant, lorsque nous considérons un mélange de molécules volatiles représentant l'odeur d'un fruit, nos résultats ne mettent pas davantage en évidence de relations entre réponses olfactives et appréciation des aliments.

### 1.5. Conclusion

La période allant de 8 à 10 mois serait une période favorable à l'introduction de nouveaux aliments. Durant cette période où les aliments sont globalement appréciés, la composante olfactive aurait relativement peu d'impact sur l'appréciation des aliments, cette appréciation étant particulièrement élevée.

2. Relations entre réponses olfactives et appréciation des aliments au cours de la seconde année de vie

## **Article 3**

Liking the odour, liking the food: The appreciation of strongly flavoured foods' correlates with liking of their odour in toddlers

En préparation pour Appetite

# Liking the odour, liking the food: The appreciation of strongly flavoured foods' correlates with liking of their odour in toddlers

S. Wagner<sup>123</sup>, S. Issanchou<sup>123</sup>, C. Chabanet<sup>123</sup>, C. Lange<sup>123</sup>, B. Schaal<sup>123</sup>, and S. Monnery-Patris<sup>123</sup>

### **ABSTRACT**

Olfaction plays an obvious role in the sensing of foods at all stages of human development. But surprisingly little information is at hand at any age on the relations between the hedonic responses to food odours and the effective liking and disliking of foods bearing these odours. The present study aimed at understanding the links between food odour liking and liking of the corresponding foods. It relied on a longitudinal design involving 235 toddlers whose both observed liking to food odour and the parent-reported liking of foods were assessed at 12 and 22 months, two key ages for the establishment of food repertoire. To assess odour liking in toddlers, 8 odorants representing pleasant and unpleasant foodstuffs were presented in bottles along with neutral stimuli. Their behaviour towards the odorized and control bottles was measured in terms of mouthing, a behaviour considered to reflect interest and attraction. For each odorant, odour liking scores were calculated relatively to the control. The participants' food liking was rated by the parents at the periods 12-15 and 21-24 months. Positive correlations were found between the odour liking scores for some of the odours and the liking of the associated foods. These correlations concerned foods with strong, unpleasant flavours at 12 months only, suggesting that olfactory system acts as an alarm system during this period of food transition. At 22 months, no significant links were found, except a marginal one for

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> CNRS, UMR6265 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000 Dijon, France

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> INRA, UMR1324 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000 Dijon, France

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Université de Bourgogne, UMR Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000 Dijon, France

green vegetables. Whatever the age, no significant correlations were found for pleasant odours. These findings connect directly observed odour liking for food-related odours and the liking for corresponding foods reported by parents. These links are subject to developmental fluctuations depending on the hedonic nature of the odorants and the age when infants are tested.

### Highlights

- Links between observed odour liking and parent-reported food liking are found
- Links between odour liking and food liking are found for unpleasant odours, not for pleasant odours
- Odours modulate the liking for foods with strong flavour at 12 but not at 22 months

### Keywords

Olfaction, odour liking, food liking, toddlers

### INTRODUCTION

It is widely admitted that children 'eat what they like', implying that they have clear-cut early food preferences and avoidances. Such early liking/disliking responses are primarily attributable to the sensory abilities of children and to the sensory properties of foods detected before or during oral intake (Drewnowski, 1997; Nicklaus, 2011). For example, bitter taste was shown to be a key driver in vegetable dislike (Drewnowski, 1996). Some studies linking 3-to 4-year-old children's PROP status and their actual food consumption found that non-tasters consumed more bitter-tasting vegetables than tasters (Bell & Tepper, 2006). Similarly for sweetness, the more an infant likes a sweet solution, the more s/he was found to like sweet foods, such as sweet fruits or cereals/desserts (Schwartz, Chabanet, Lange, Issanchou, & Nicklaus, 2011). Finally, infants' liking of a sour solution positively correlates with their appreciation of sour fruits (Blossfeld et al., 2007; Liem, Bogers, Dagnelie, & de Graaf, 2006; Schwartz et al., 2011).

The sense of smell is an essential gatekeeper of oral behaviour which precedes intake and any sensation of taste, and continues to be stimulated post-ingestively by the retronasal route. However, very few studies have attempted to understand the link between olfactory responses (i.e., odour sensitivity, reactivity or liking) and actual food acceptance. For example, using a questionnaire approach, Coulthard and Blissett (2009) showed that 2-5 year-old children consume less fruits - in both amount and variety - when they are declared by their parents to be more sensitive to smells and tastes. Other studies tested odour sensitivity in the laboratory to relate the sensitivity for food-specific volatile compounds and the liking of foods bearing these same compounds (Engel, Martin, & Issanchou, 2006; Jaeger et al., 2012; Solbu, Jellestad, & Straetkvern, 1990). It came out that adult non-consumers of cauliflower were more sensitive to allyl isothiocyanate - a compound responsible of the cauliflower odour - than medium/high consumers (Engel et al., 2006). In another study adult participants

classified as sensitive to the green/grassy odour of cis-3-hexen-1-ol had a tendency to consumed cucumber and green salads more frequently than their non-sensitive counterparts (Jaeger et al., 2012). Otherwise, consumers who were more sensitive to two main off-odour compounds present in pork meat from entire male pigs - androstenone and skatole - expressed lower acceptability of this meat, both in terms of odour and flavour, than less sensitive consumers (Meier-Dinkel et al., 2013; Weiler et al., 2000). However, other studies did not find differences in meat acceptability in relation with the sensitivity to these compounds (Font-i-Furnols, 2012). Moreover, no link was found between sensitivity to trimethylamine, a compound partly responsible for the fishy odour, and the liking or consumption of fish in 6 to 16 year-old participants (Solbu et al., 1990). Thus, the few studies that aimed to relate olfactory responses and actual food acceptance in either childhood or adulthood led to different, sometimes contradictory, conclusions. It is not uncommon that an odour/flavour is appreciated in the eating context (e.g., garlic or cheese) and disliked in non-eating contexts. However, it is reasonable to think that during early childhood, when individuals are offered foods for the first times, they are more sensitive or reactive to their chemosensory properties. Thus, early childhood is the most favourable period to investigate whether and how the perception of odour properties that predominate in a given foodstuff is linked with its appreciation/rejection.

The present study assessed therefore whether and how the liking of given food odours is related with the liking of corresponding foods at the age period when children are being introduced and increasingly exposed to the typical foods of their culture. While previous studies focused on one or two food-specific volatile compounds, we investigated here a wider range of food odours. The target odours were hedonically contrasted, being associated with foodstuffs that are either liked or disliked by children. This study focused on two important time points in the development of human eating behaviour: 12 months, when the food

repertoire of toddlers shifts from baby foods to the full range of table foods (Le Heuzey, Turberg-Romain, & Lelièvre, 2007); and 22 months, when food neophobia (defined as the reluctance of trying foods that are novel or unknown to the child) and pickiness (defined as the rejection of a substantial number of familiar foods) begin to appear (Cashdan, 1994; Dovey, Staples, Gibson, & Halford, 2008; Rigal, Chabanet, Issanchou, & Monnery-Patris, 2012). Based on most of the studies mentioned above, we expected positive correlations between the liking to a given food odour and the liking of the foods bearing this same odour.

### PARTICIPANTS AND METHODS

#### Context and ethical conditions

The present data were collected in the context of a larger research programme, the 'Observatory of food preferences in toddlers and children' (OPALINE), which aimed at understanding the formation of food preferences from birth until the age of 2 years. Participating mothers were recruited before or during the last trimester of pregnancy through descriptive leaflets left at health professionals and in day-care centres. To be included into the cohort, both parents had to have reached 18 years old (legal majority), and toddlers had to be in good health at birth. The aims and methods of the study were explained to the parents in great detail. Written and informed consent was obtained from both parents for all toddlers. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki, and was approved by the local ethical committee (Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale de Bourgogne).

### **Participants**

The toddlers (n=235, 112 girls and 123 boys) participated in the olfactory tests run in the laboratory at about 12 and 22 months of age (mean age  $\pm$  SD:  $372 \pm 12$  and  $670 \pm 10$  days, respectively). They did not present any eating disorders or allergies, and had no otorhinolaryngological infection at the time of the visits in the laboratory. They had all begun exposure to complementary feeding (on average at  $167 \pm 33$  days of age).

### Measurement of odour liking

The procedure of the olfactory tests is fully described elsewhere (Wagner et al., 2013) and only summarized elements on it are given below.

#### Odour stimuli

They consisted in 8 odorants chosen because they represent foodstuffs that evoke contrastive responses in young participants. Four odorants (strawberry, peach/apricot, apple, vanillin) were associated with foods generally liked by children, and four odorants (butyric acid, trimethylamine, dimethyl disulphide, 2-isobutyl-3-methoxypyrazine) were associated with foods quite often disliked. More details about the odorants are presented in Wagner et al. (2013). Control stimuli were also used and consisted in mineral oil. All the stimuli were presented in nipple-less, transparent toddler-ergonomic bottles (12 x 6 cm, opening diameter: 2.3 cm; Tex, Carrefour, France).

### Procedure to assess odour liking

Toddlers were individually welcomed with one of their parents in a room especially dedicated to sensory testing. To control the toddler's hunger state, parents were asked not to feed them at least 1.5 hour before the test. Compliance with this instruction was confirmed before the

beginning of the session by asking the parents when the toddler's last meal had occurred. A familiarization phase took place before test onset to accustom the participants with the room and experimenters. For the test itself, the 12-month-old toddlers sat on their parent's lap, whereas the 22-month-old toddlers were seated in a baby-seat next to the parent. All participants were seated facing a table on which the stimulus bottles were successively presented in sequences of 3 bottles: a control bottle, followed by a pleasantly odorized bottle, and then an unpleasantly odorized bottle. The stimuli were always presented in this order to avoid the infants' global rejection of the testing procedure. A session was composed of 4 such sequences, involving the responses towards 12 odorant stimuli. Each bottle was made available for toddler's manipulation during 60 s at the 12-month test, with a 15-s break between bottles. As signs of boredom from the repeated testing situation tended to appear more quickly at age 22 months, the duration of bottle presentation was then shortened to 30 s. A 5- to 15-min break in testing occurred after the second sequence to limit fatigue.

All tests were videotaped to analyse the toddlers' spontaneous exploratory behaviour towards the bottles. We focused on mouthing behaviour which was defined as any direct contact between the toddler's perioral and/or perinasal areas with the opening of the bottle. The videos were analysed frame-by-frame using the Observer software (Noldus, Wageningen, The Netherlands) to measure the duration of mouthing behaviour of toddlers towards the bottles.

### Measurement of food liking

### Report of toddlers' food liking by the parents

Parents were asked to fill in questionnaires about their toddler's feeding retrospectively for a period of three months. Questionnaires were completed when toddlers reached 15, 18, 21 and 24 months. These questionnaires included 257 food and beverage items from different categories (vegetables, potato, meat, giblets/delicatessen/eggs, fish/sea shells, bread/cereal products/starchy foods, mixed dishes, cheese, milk/dairy products, biscuits/desserts/cake/sweetmeat, condiment/spice/sauce, beverages). Parents were asked to rate the frequencies of consumption using a 5-point scale ranging from 'every day or almost', '1 to 3 times per week', '1 to 3 times per month', 'less than 1 time per month', to 'never'. They were also asked to rate their toddler's liking for each food of the questionnaire using a 4-point scale ranging from '- -', '-', '+' to '++'. The different levels of the scale were illustrated as followed: '--' (very negative): when the toddler turned his or her head away, spit out the food, frowned, pushed the spoon away and/or stopped eating; '-' (negative): when the toddler ate a couple of spoons, made grimaces, and stopped eating; '+' (positive): when the toddler ate some of the food without specific reaction; and '++' (very positive): when the toddler accepted the food from the first spoon, smiled, and/or asked for more. These different levels of food liking were converted into scores of -3, -1, 1, and 3 to obtain the same interval between adjacent scores all along the scale.

### Selection of foods containing each odorant used for the olfactory test

Among the 257 food and drink items specified in the questionnaire, we selected those which carried predominant odour qualities that correspond to the tested odorants. For apple, strawberry, peach, apricot or vanilla odorants, the food items containing apple, strawberry, peach, apricot or vanilla were selected from the questionnaire (**Table 1**). For the other

odorants, three chemical data bases of volatile compounds were systematically screened: the Flavor-Base<sup>©</sup> 2010 (http://www.leffingwell.com), the VCF Database 14.1 available through TNO Triskelion (VCF Volatile Compounds in Food), and the Inra-CSGA database. This procedure allowed selecting foods bearing the target odorants. Each odorant was associated to one food category, except dimethyl disulphide which was associated to two food categories (Table 1).

**Table 1**Correspondence between each target odorant and the selected foods containing it

Odorants	Food categories	Selected foods		
Vanillin	Vanilla desserts	Any dessert containing vanilla		
Apple	Apple products	Apple (fruit or compote), apple juice		
Peach/apricot	Peach or apricot products	Peach (fruit or compote), apricot (fruit, compote), apricot jam		
Strawberry	Strawberry products	Strawberry (fruit, compote), strawberry jam		
Butyric acid	Butyric cheeses	Raclette, Emmental, Gruyère, Comté, Beaufort, Mont d'Or, Saint Marcellin, Camembert, Brie, Cantal, Morbier, Tomme, Saint Nectaire, Munster, Epoisses, blue cheeses, Cancoillotte, ewe/goat cheese, Bonbel <sup>®</sup> , Babybel <sup>®</sup> , Port-Salut <sup>®</sup>		
Dimethyl disulphide	Sulphurous cheeses	Garlic and chives cheeses, Cancoillotte, Camembert, Munster, Epoisses, blue cheeses.		
Dimethyl disulphide	Sulphurous vegetables	Broccoli, cabbage, cauliflower, Brussels sprouts, leek, chive, garlic, onion, shallot, capers		
2-isobutyl-3-methoxypyrazine	Green vegetables	Green pepper, green bean, green salad, green peas		
Trimethylamine	Fishes	Dried cod, whitefish, herring in oil, dog fish, fresh salmon, tuna, sardine, mackerel, fish soup, shellfish, sea shell, breaded fish		

### Output variables and statistical analyses

### Odour liking scores

The mouthing duration was measured for each toddler and for each stimulus bottle. The mouthing duration of each tested bottle was corrected for the duration of inaccessibility of the bottle (e.g., when the bottle dropped onto the floor). Then, for each odour, an odour liking score was defined as the ratio between the mouthing duration on the odorized bottle and the sum of mouthing duration associated to the odorized bottle and the corresponding control bottle in the sequence. In some cases, toddlers did not complete the olfactory test, thus data were missing for some odours. A score of 0.5 indicates an indifference to the odour. A score higher than 0.5 indicates an attraction while a score lower than 0.5 indicates an avoidance of the odour compared to the control. The score was not taken into account when the control bottle was not mouthed, in order to avoid noise in the data. Indeed, in this case, the score does not depend on the duration of mouthing of the odorized bottle, and is systematically equal to 1. Avoiding noise in the data gives more power for assessing the links between the toddler-expressed liking and the parent-rated food liking.

At each time-point, individual median scores for pleasant and unpleasant odours were calculated. Then, a paired Wilcoxon test was performed to assess whether the median odour liking score for pleasant odours was significantly different from the median odour liking score for unpleasant odours. Kendall correlations were also performed to assess whether individual scores (for each odour) at two time-points were correlated (unilateral tests).

### Food liking scores

A score ranging from -3 to  $\pm$ 3 (see above) was obtained for each food item specified in the questionnaire. For each toddler and each food category (as defined in Table 1), the average liking score ( $\pm$  SD) over the food items of the category was calculated. Since the introduced

foodstuffs differed from one toddler to another, the food liking scores could be missing for some toddlers and for some food categories. For each food category, a paired Wilcoxon test was performed to compare liking scores at 12 and 22 months. Kendall correlations were performed to assess whether food liking scores (for each food category) at two time-points were correlated.

Relationships between odour liking and food liking scores

Kendall correlations (Kendall  $\tau$ ) were calculated to assess whether the liking of a given odour at 12 months was correlated with the liking of the food bearing this odour, measured between the ages of 12 and 15 months. As positive correlations were expected, unilateral tests were performed. The same analyses were performed with the odour liking at 22 months and the liking of foods bearing the odour between the ages of 21 and 24 months.

All statistical analyses were carried out with the R software (version 3.0.1).

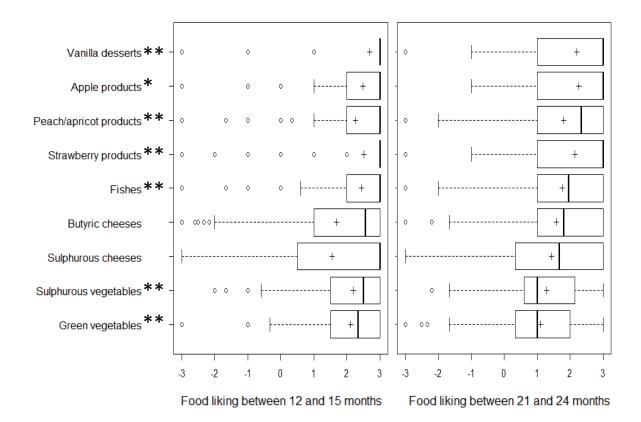
### RESULTS

### Odour liking

As expected, the bottles containing unpleasant odours were mouthed for significantly shorter durations than the bottles containing pleasant odours at both 12 months (p<0.01) and 22 months (p<0.01). Correlations between the odour liking scores at 12 and 22 months reached significance for butyric acid (tau=0.13, p=0.02) and for strawberry (tau=0.10, p=0.05).

### Food liking

During the period covering the 12-15 months of age, the food categories mentioned in Table 1 were introduced in the diet for a majority of the participants. The least frequently introduced category of foodstuffs was sulphurous cheeses, although as much as 63.8% of the toddlers were already exposed to it. Globally, parents reported positive liking for each of the targeted food category (**Figure 1**). The food category receiving the lowest liking score was sulphurous cheeses (mean score  $\pm$  SD:  $1.5 \pm 2$ ), while the food category receiving the highest liking score was vanilla desserts (mean score  $\pm$  SD:  $2.7 \pm 0.9$ ).



**Figure 1**: Food liking in toddlers between the ages of 12 and 15 months (left boxplot); and between the ages of 21 and 24 months (right boxplot). Paired Wilcoxon test was performed to assess the decrease of the liking between the 2 periods. \*: p<0.05, \*\* : p<0.01, + represent the mean liking for each food category. Between the ages of 12 and 15 months, vanilla desserts were consumed by 83% of toddlers, apple by 88%, peach/apricot by 80%, strawberry by 75%, fishes by 88%, butyric cheeses by 84%, sulphurous cheeses by 64%, sulphurous vegetables by 87%, and green vegetables by 89%. Between the ages of 21 and 24 months, vanilla desserts were consumed by 87% of toddlers, apple by 95%, peach/apricot by 76%, strawberry by 88%, fishes by 95%, butyric cheeses by 92%, sulphurous cheeses by 86%, sulphurous vegetables by 95%, and green vegetables by 96%.

During the period covering 21-24 months of age, the liking scores for each food category were lower compared to the 12-15-months period, although they were still positive. The food category receiving the lowest liking score was green vegetables (mean score  $\pm$  SD:  $1.1 \pm 1.2$ ), while the food category receiving the highest liking score was apple products (mean score  $\pm$  SD:  $2.3 \pm 1.0$ ).

The decrease of the liking scores for each category of foodstuffs between 12 and 22 months was significant for all food categories, except for both cheese categories. Significant correlations were noted between food liking scores at 12 and 22 months for fishes (tau=0.32, p<0.01), sulphurous vegetables (tau=0.30, p<0.01), green vegetables (tau=0.27, p<0.01), butyric cheeses (tau=0.27, p<0.01), strawberry products (tau=0.27, p<0.01), sulphurous cheeses (tau=0.22, p<0.01), apple products (tau=0.14, p=0.03), peach/apricot products (tau=0.17, p=0.02). Only a marginally significant correlation was observed for vanilla desserts (tau=0.18, p=0.06).

Relations between odour liking and liking of foods containing the target odorants

At the age of 12 months, two positive correlations reached statistical significance: i/ between the liking score for the odour of trimethylamine and the liking score for fishes; ii/ between the liking score for the odour of dimethyl disulphide and the liking score for sulphurous cheeses. Moreover, a marginally positive correlation was noted between the liking score for the odour of dimethyl disulphide and the liking score for sulphurous vegetables (**Table 2**).

At the age of 22 months, the liking score for the odour of 2-isobutyl-3-methoxypyrazine correlated positively, but marginally, with the liking score for green vegetables (**Table 3**).

At the ages of 12 and 22 months, none of the correlations between the liking scores for *a priori* pleasant odours and the liking scores for the food bearing these odours reached significance (**Tables 2 and 3**).

**Table 2**Links between odour liking at the age of 12 months and liking of food bearing these odours between the ages of 12 and 15 months

Odorant	Food category	Numbers of items in the category	Mean number of items introduced	Kendall τ	P- value	Toddlers (n)*
Vanillin	Vanilla Desserts	1	1	-0.15	0.97	97
Apple	Apple products	2	1.4	-0.08	0.88	139
Peach/apricot	Peach or apricot products	4	2.0	0.03	0.33	135
Strawberry	Strawberry products	2	1.4	0.02	0.38	121
Trimethylamine	Fishes	12	3.0	0.11	0.04	148
Butyric acid	Butyric cheeses	13	4.5	-0.06	0.84	139
Dimethyl disulphide	Sulphurous cheeses	5	2.4	0.14	0.03	106
Dimethyl disulphide	Sulphurous vegetable	10	4.5	0.08	0.09	144
2-isobutyl-3- methoxypyrazine	Green vegetables	4	2.7	< 0.01	0.49	138

Statistically significant results are given in bold type.

To sum up, the participants displayed differentiated liking scores for the present set of target food odours selected *a priori* as being hedonically contrasted. The participants were also reported by parents as displaying differential liking scores for a range of foodstuffs which are known to contain the above odorants, and to present similar odour qualities. When associations between both sources of liking scores (for odour and corresponding food) were assessed, it came out that liking for an odour and liking for the olfactorily-corresponding food correlated positively for the "strongest" or more pungent odour qualities, such as

<sup>\*</sup>The number of participants varied between 97 and 148 for three reasons. First, some toddlers were not introduced to all food categories, thus liking score was not available. Second, in some cases, toddlers did not complete the olfactory test, leading to missing data for some odorants. Third, sometimes during olfactory test, the control bottle of a sequence was not mouthed; then the score for the odorant of the same sequence was not taken into account, leading to missing data.

trimethylamine and dimethyl disulphide, at the age of 12 months. However, this statistical association vanished at the age of 22 months.

**Table 3**Links between odour liking at the age of 22 months and liking of food bearing specific odours between the ages of 21 and 24 months

Odorant	Food category	Numbers of items in the category	Mean number of items introduced	Kendall τ	P- value	Toddlers (n)
Vanillin	Vanilla Desserts	1	1	-0.10	0.90	126
Apple	Apple products	2	1.7	-0.06	0.81	144
Peach/apricot	Peach or apricot products	4	2.1	0.05	0.26	116
Strawberry	Strawberry products	2	1.6	0.08	0.14	144
Trimethylamine	Fishes	12	4.9	-0.05	0.80	145
Butyric acid	Butyric cheeses	13	7.0	-0.02	0.62	148
Dimethyl disulphide	Sulphurous cheeses	5	3.2	-0.004	0.53	151
Dimethyl disulphide	Sulphurous vegetable	10	5.5	-0.06	0.87	167
2-isobutyl-3- methoxypyrazine	Green vegetables	4	3.2	0.10	0.06	142

Significant results are in bold.

#### **DISCUSSION**

The current study investigated odour liking, food liking, and the links between them at 12 and 22 months, two key ages for the establishment of the individual food repertoire. Positive correlations were expected between the liking score for a given food odour and the liking scores of the foods bearing this same odour. Our findings highlight that during the transition from baby foods to table foods (12 months), odour liking was significantly linked with the liking of foods conveying the same odours, but only for foods bearing strong odours, i.e. for fishes and sulphurous cheeses. A trend in the same direction was noted for sulphurous vegetables. However, at the period when food neophobia and pickiness generally set on (22 months), these links were no longer significant, and only one marginally positive correlation emerged between the liking of green vegetable odour and the liking of green vegetables. Our

<sup>\*</sup>The number of participants varied between 116 and 167 (cf. Table 2).

prediction that infant liking of a given food odour will positively connect with the liking of the food conveying that odour is thus only partially supported by the present results. The present pattern of results and reasons for it are further discussed below.

Infants' food odour liking at 12 and 22 months

Collectively, the unpleasantly odorized bottles received significantly less mouthing than the pleasantly odorized bottles. Thus, in the present experimental conditions and assuming that mouthing reflects hedonic responsiveness, 12 and 22 month-old toddlers are able to discriminate odorants along their unpleasantness. This in itself adds to the extant literature on the development of infants to express odour-based preferences in an early period that has been relatively little studied (e.g., Schaal, 2013). As regards the association of odour liking scores between the two ages considered, only one weak but significant and one marginallysignificant correlation emerged for butyric acid and for strawberry, respectively. Thus, at least for the present odorants and way of testing infants, their liking response is far from being generalized over the 12-22 months age range. This would suggest intra-individual variability in the development of the hedonic odour perception, i.e. that an odour liking response at one age does not predict the liking of that same odour at later age. The grounds of such interindividual variability are not well understood, but could be explained by multiple factors (see, e.g., Wagner et al., 2013), involving age-related changes in either olfactory responsiveness (sensitivity changes), amount of exposure to the present odorants (in increasingly different foodstuffs), or participants' reception of the procedures (altered meaning of the bottle as a way to present odorants).

At the ages of 12 and 22 months all foods that were screened through the parent-responded questionnaire received high liking scores. Although parents' overestimation of their toddlers' liking cannot be excluded, high liking of foods has been previously reported within the first two years of life, a period of development when most foods tend to be accepted (Cashdan, 1994). An initial period of easy acceptation of non-milk foods may promote the diversification of the food repertoire before the emergence of food neophobia and pickiness (Cashdan, 1994; Nicklaus, Chabanet, Boggio, & Issanchou, 2005; Rigal et al., 2012). Showing a decrease in food liking which occurs somewhere between the 12-15 and 21-24 months, our data are consistent with previous studies suggesting early signs of the advent of food neophobia and pickiness (Barends, De Graaf, & de Vries, 2013; Cashdan, 1994; Nicklaus, Chabanet, et al., 2005; Rigal et al., 2012).

*Is the liking of foods systematically linked with food-related odour liking?* 

When significant links were evidenced between the infants' observed liking for food-related odours and parent-reported liking of corresponding foods these links were heterogeneous both in terms of hedonic value of the odours and of developmental timing.

First, at both ages, links were observed for the odours considered unpleasant and "strong" by adults, but not for pleasant odours. The absence of correlation between liking of pleasant odours and liking of the foods bearing these odours may be due to the generally high liking responses elicited by these food categories in a majority of toddlers, leading to a ceiling effect. The pleasant odours used here represent indeed sweet foods. It is well established that sweetness of some foods, notably fruits, is a salient dimension that reliably predicts liking in

infants and children (Birch, 1979; Schwartz et al., 2011). Another reason for the high liking of these foods could be their relative familiarity a dimension known to underlie food liking at all ages (Birch, 1979; Cooke, 2007). In our study population, the effect of familiarity may especially apply to fruits, one of the first food category to which infants are introduced during the complementary feeding period (Lange et al., 2013). In future work, it would be interesting to extend the study of the food odour/food acceptance issues to other liked food categories, such as meat (Nicklaus, Boggio, & Issanchou, 2005a).

Secondly, our results highlight correlations between the observed liking for unpleasant food odours and the reported liking of these strongly-flavoured foods at age 12 months, but not at age 22 months. At 12 months, correlations were reported between odour liking and liking for foods involving fish, sulphurous cheeses, or sulphurous vegetables. It is noticeable that these links emerged for both food categories bearing sulphurous odours. It may be speculated that the foods bearing a stronger flavours may be perceived as potentially harmful and that the olfactory system might act to warn the organism about potential toxicity. This lifelong function of the olfactory system operates since birth (Soussignan, Schaal, Marlier, & Jiang, 1997; Steiner, 1979) in eliciting faster responses towards unpleasant than toward pleasant odours (Boesveldt, Frasnelli, Gordon, & Lundström, 2010). However, our follow-up does not further support the stability of the observed food odour liking/reported food liking correlation at 22 months for foods bearing strong flavours. This developmental change of infants' responsiveness to strong odours and the foods carrying them may be explained by the increasing familiarisation with these food categories. In fact, the recorded frequency of consumption of each food category increased between the 12-15 and 21-24 months periods (all p-values<0.001, data not shown). Through their regular exposure to these foods, the toddlers may have learned that they are safe, nutritious and/or palatable despite their initially unpleasant odours (Birch & Fisher, 1998).

At 22 months, only a marginal link was observed between olfactory liking to green vegetables odour and the liking of green vegetables. Interestingly, 'green vegetables' was the least liked food category at 22 months, which could be due to several factors, such as low energy and specific parental practices (Gibson & Wardle, 2003; Rigal et al., 2012).

#### **CONCLUSION**

At 12 months when food repertoire is widening, olfactory system could act as an alarm system by preventing the organism to ingest foods with strong flavour which could be harmful. Consequently, odour liking could be interpreted as a determinant of food liking at this time-point. However, when toddlers reached 22 months, the links vanish probably due to the greater knowledge of the foods.

#### REFERENCES

- Barends, C., De Graaf, C., & de Vries, J. The effects of weaning with either fruits or vegetables at the age of 4 6 months on vegetable and fruit acceptance at 12 and 23 months.10th Pangborn Sensory Science Symposium, Rio de Janeiro, Brazil, August 2013.
- Bell, K. I., & Tepper, B. J. (2006). Short-term vegetable intake by young children classified by 6-n-propylthoiuracil bitter-taste phenotype. *American Journal of Clinical Nutrition*, 84(1), 245-251.
- Birch, L. L. (1979). Dimensions of preschool children's food preferences. *Journal of Nutrition Education*, 11(2), 77-80.
- Birch, L. L., & Fisher, J. O. (1998). Development of eating behaviors among children and adolescents. *Pediatrics*, 101(3), 539-549.
- Blossfeld, I., Collins, A., Boland, S., Baixauli, R., Kiely, M., & Delahunty, C. (2007). Relationships between acceptance of sour taste and fruit intakes in 18-month-old infants. *British Journal of Nutrition*, 98(5), 1084-1091.
- Boesveldt, S., Frasnelli, J., Gordon, A. R., & Lundström, J. N. (2010). The fish is bad: Negative food odors elicit faster and more accurate reactions than other odors. *Biological Psychology*, 84, 313-317.
- Cashdan, E. (1994). A sensitive period for learning about food. *Human Nature*, 5(3), 279-291.
- Cooke, L. (2007). The importance of exposure for healthy eating in childhood: a review. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 20(4), 294-301.
- Coulthard, H., & Blissett, J. (2009). Fruit and vegetable consumption in children and their mothers: moderating effects of child sensory sensitivity. *Appetite*, 52(2), 410-415.
- Dovey, T. M., Staples, P. A., Gibson, E. L., & Halford, J. C. G. (2008). Food neophobia and 'picky/fussy' eating in children: A review. *Appetite*, *50*(2-3), 181-193.
- Drewnowski, A. (1996). Perception de l'amertume et préférences alimentaires. *Cahiers de Nutrition et de Diététique, 31*(3), 165-170.
- Drewnowski, A. (1997). Taste preference and food intake. *Annual Review of Nutrition, 17*, 237-253.
- Engel, E., Martin, N., & Issanchou, S. (2006). Sensitivity to allyl isothiocyanate, dimethyl trisulfide, sinigrin, and cooked cauliflower consumption. *Appetite*, 46(3), 263-269.
- Font-i-Furnols, M. (2012). Consumer studies on sensory acceptability of boar taint: A review. *Meat Science*, 92(4), 319-329.
- Gibson, E. L., & Wardle, J. (2003). Energy density predicts preferences for fruit and vegetables in 4-year-old children. *Appetite*, 41(1), 97-98.
- Jaeger, S. R., Pineau, B., Bava, C. M., Atkinson, K. R., McRae, J. F., Axten, L. G., et al. (2012). Investigation of the impact of sensitivity to cis-3-hexen-1-ol (green/grassy) on food acceptability and selection. *Food Quality and Preference*, 24, 230-242.
- Lange, C., Visalli, M., Jacob, S., Chabanet, C., Schlich, P., & Nicklaus, S. (2013). Maternal feeding practices during the first year and their impact on infants' acceptance of complementary food. *Food Quality and Preference*, 29(2), 89-98.
- Le Heuzey, M. F., Turberg-Romain, C., & Lelièvre, B. (2007). Comportement alimentaire des nourrissons et jeunes enfants de 0 a 36 mois : comparaison des habitudes des mères. Comparison of feeding behaviour in mothers of infants and young children from 0 to 36 months old. *Archives de Pédiatrie, 14*(11), 1379-1388.
- Liem, D. G., Bogers, R. P., Dagnelie, P. C., & de Graaf, C. (2006). Fruit consumption of boys (8-11 years) is related to preferences for sour taste. *Appetite*, 46(1), 93-96.
- Meier-Dinkel, L., Trautmann, J., Frieden, L., Tholen, E., Knorr, C., Sharifi, A. R., et al. (2013). Consumer perception of boar meat as affected by labelling information,

- malodorous compounds and sensitivity to androstenone. *Meat Science*, 93(2), 248-256.
- Nicklaus, S. (2011). Children's acceptance of new foods at weaning. Role of practices of weaning and of food sensory properties. *Appetite*, 57(3), 812-815.
- Nicklaus, S., Boggio, V., & Issanchou, S. (2005a). Food choices at lunch during the third year of life: high selection of animal and starchy foods but avoidance of vegetables. *Acta Pædiatrica*, 94(7), 943-951.
- Nicklaus, S., Chabanet, C., Boggio, V., & Issanchou, S. (2005). Food choices at lunch during the third year of life: increase in energy intake but decrease in variety. *Acta Pædiatrica*, *94*(8), 1023-1029.
- Rigal, N., Chabanet, C., Issanchou, S., & Monnery-Patris, S. (2012). Links between maternal feeding practices and children's eating difficulties. Validation of French tools. *Appetite*, 58(2), 629–637.
- Schaal, B. (2013). Developing human olfaction and its functions in early cognition and behavior. In R. L. Doty (Ed.), *Handbook of Olfaction and Gustation, 3rd Edition*. New York: Raven Press (in press).
- Schwartz, C., Chabanet, C., Lange, C., Issanchou, S., & Nicklaus, S. (2011). The role of taste in food acceptance at the beginning of complementary feeding. *Physiology & Behavior*, 104, 646-652.
- Solbu, E. H., Jellestad, F. K., & Straetkvern, K. O. (1990). Children's sensitivity to odor of trimethylamine. *Journal of Chemical Ecology*, *16*(6), 1829-1840.
- Soussignan, R., Schaal, B., Marlier, L., & Jiang, T. (1997). Facial and autonomic responses to biological and artificial olfactory stimuli in human neonates: Re-examining early hedonic discrimination of odors. *Physiology & Behavior*, 62(4), 745-758.
- Steiner, J. E. (1979). Human facial expressions in response to taste and smell stimulation. *Advances in Child Development and Behavior*, 13, 257-295.
- Wagner, S., Issanchou, S., Chabanet, C., Marlier, L., Schaal, B., & Monnery-Patris, S. (2013). Infants' hedonic responsiveness to food odours:a longitudinal study during and after weaning (8, 12 and 22 months). *Flavour*, 2, 19.
- Weiler, U., Font I Furnols, M., Fischer, K., Kemmer, H., Oliver, M. A., Gispert, M., et al. (2000). Influence of differences in sensitivity of Spanish and German consumers to perceive androstenone on the acceptance of boar meat differing in stakole and androstenone concentrations. *Meat Science*, 54(3), 297-304.

3. Relations entre réactivité chimiosensorielle et néophobie alimentaire

#### **Article 4**

Links between chemosensory reactivity and food neophobia in preschool children: impact of smell, but not of taste

En préparation pour Appetite

### Links between chemosensory reactivity and food neophobia in preschool children: impact of smell, but not of taste.

Sandrine Monnery-Patris<sup>a,b,c</sup>, Sandra Wagner<sup>a,b,c</sup>, Natalie Rigal<sup>d</sup>, Camille Schwartz<sup>a,b,c\*</sup>, Claire Chabanet<sup>a</sup>, Sylvie Issanchou<sup>a</sup>, and Sophie Nicklaus<sup>a</sup>

<sup>a</sup> CNRS, UMR6265 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000, Dijon, France

<sup>b</sup> INRA, UMR1324 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000, Dijon, France

<sup>c</sup> Université de Bourgogne, UMR Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000, Dijon, France

<sup>d</sup> Paris-Ouest University, 92000 Nanterre, France \* Present address: Institut Paul Bocuse, 69130 Écully, France

#### Abstract

Context and objective: Recent studies suggested that sensory sensitivity could be linked to food neophobia, described as the reluctance to eat, or the avoidance of, new foods. The objective of the present study was twofold. Firstly, this study aimed at assessing the links between olfactory reactivity and gustatory reactivity in 2-year-old children. Secondly, this study assessed the links between children's olfactory/gustatory reactivity and food neophobia. The hypothesis was that the higher the chemosensory reactivity of the child, the more the child is neophobic.

*Method*: One hundred and twenty-three dyads of mother-child, from the Opaline cohort, was involved. The children's food neophobia was assessed using a validated parent-administered questionnaire (Rigal et al., 2012) when the child was 22 months. The children's gustatory reactivity was assessed at 20 months, using an experimental design described in Schwartz et al. (2009), based on the variance of intake scores obtained for 5 tastes. The children's olfactory reactivity was assessed at 22 months, using an experimental design described in Wagner et al., (2013), based on the variance of mouthing scores obtained for 4 bottles bearing pleasant food odours and 4 bottles bearing unpleasant food odours.

Results: Kendall correlation analyses indicated no significant association between olfactory

reactivity and gustatory reactivity in children (tau=0.06, p=0.46), suggesting that olfactory

reactivity and gustatory reactivity are two independent components of chemosensory

behaviours. Significant correlations were reported only between olfactory reactivity and

children's neophobia score (tau=0.12, p=0.04), but not between gustatory reactivity and

children's neophobia score (tau=0.04, p=0.29).

Conclusion: These results suggest that olfactory reactivity and gustatory reactivity, which are

two independent behaviours, are differently associated with children's neophobia. This study

highlights that neophobic children are more responsive to olfactory cues than less neophobic

children, but neophobic children seem not to react differently to gustatory cues than less

neophobic children.

**Key words** 

Olfactory reactivity; gustatory reactivity; food neophobia; children; taste; smell

**Highlights** 

- No link was observed between olfactory reactivity and gustatory reactivity in children

- Olfactory reactivity is linked with children's neophobia

- Gustatory reactivity is not linked with children's neophobia

139

#### Introduction

Food neophobia is a relatively common phase in 2-6 year-old children, described as the reluctance in willingness to taste or consume new foods (Blisset and Fogel, 2013; Dovey, Staples, Gibson, & Halford, 2008; Pelchat & Pliner, 1995; Pliner & Hobden, 1992). Food neophobia is also considered as an efficient behavioural strategy to prevent young children from ingesting poisonous substances, concomitant with increasing autonomy of children from parental supervision. It is well documented that food neophobia affects dietary variety (Falciglia, Couch, Gribble, Pabst, & Frank, 2000; Nicklaus, Chabanet, Boggio, & Issanchou, 2005; Skinner, Carruth, Wendy, & Ziegler, 2002), and fruit and vegetable consumption (Cooke, Wardle, & Gibson, 2003; Galloway, Lee, & Birch, 2003) which are known to be nutrient-rich in relation to their low energy content (Darmont et al., 2005), and can help to prevent a number of chronic diseases including cardiovascular disease and some cancers (WHO, 2003). Thus, identifying the factors that are linked to children's neophobia is a challenging priority for both public health and education. Food neophobia shows stability within individuals across time, such that individuals showing greatest neophobia and restriction of range of food intake in the preschool years also show lower acceptance of a wide range of foods into the adult years (Nicklaus et al., 2005). Children's food neophobia concerned parents who are worried about the low dietary diversity of their child (Pelchat & Pliner, 1986) and who also encountered difficulties in meal management (Rigal, 2005; Rigal et al., 2012). Although food neophobia has been considered as an inherent individual trait, parental strategies like modelling (Gibson, Wardle & Watts, 1998), repeated exposures and reward (Wardle, Herrera, Cooke et Gibson, 2003), the age of introduction to lumpy solids (Northstone, Emmett & Nethersole, 2001) or breastfeeding (Maier, Chabanet, Schaal, Leathwood & Issanchou, 2008) may facilitate children's acceptance of novel foods.

Food neophobia seems also related to children's characteristics, such as sensory sensitivity. Recent studies suggested that parental reports of their children taste and smell sensitivity is a particularly strong determinant of children's willingness to consume foods, and has been shown to moderate the very strong relationship between parent and child fruit and vegetable consumption. Using questionnaires filled in by parent, it has been shown that 2-5 year-old children, who were rated as more taste/smell sensitive, do not seem to model their parents' consumption of fruit and vegetable (Coulthard & Blissett, 2009). In the study conducted by Farrow & Coulthard (2012), both anxiety and sensory sensitivity were associated with selective eating in children aged 5–10 years. Moreover, it was shown that child sensory sensitivity mediated the relationship between anxiety and selective eating in children, suggesting that greater sensitivity to sensory information may explain why more anxious children are more likely to be selective eaters.

As foods differ in their sensory properties, it is not surprising to observe that children's food intake/preference may be influenced by sensory sensitivity or liking (Bell & Tepper, 2006; Blossfeld, Collins, Boland, Baixauli, Kiely, & Delahunty, 2007; Coulthard & Blissett, 2009; Cooke et al., 2003; 2004; 2006; Drewnowski, 1997; Liem, Bogers, Dagnelie, & de Graaf, 2006; Schwartz, Chabanet, Lange, Issanchou, & Nicklaus, 2011), but this association is not systematically reported (see Keller et al., 2002; Lumeng et al., 2008; Solbu, Jellestad, & Straetkvern, 1990). To date, only one study directly assessed the links between food intake, sensory sensitivity and food neophobia in preschool children (Tsuji, Nakamura, Tamai, Wada, Sahashi, Watanabe, et al., 2013). In this study, intake of vegetables, fruits and soy foods was estimated from dietary records in Japanese children classified as either tasters or non-tasters of 6-n-propylthiouracil (PROP), a bitter compound. Children's food neophobia was also assessed. The results revealed, but only in boys, that a high intake of vegetables was significantly associated with a low neophobia level. More interestingly, boys' soy food intake

was significantly higher in PROP non-tasters than in tasters, except for those with low neophobia level. These data suggest that sensitivity to bitter taste and food neophobia may influence the consumption of vegetables and soy foods among preschool boys.

The present study aimed at examining the links between food neophobia and sensory reactivity in young children, measuring both olfactory reactivity and gustatory reactivity. We used a large set of sensory stimuli to determine the level of olfactory/gustatory reactivity of the children. We stated the hypothesis that children's olfactory reactivity and gustatory reactivity are two independent behaviours. Since neophobic behaviours emerge between 18-24 months (Addessi, Galloway, Visalberghi, & Birch, 2005; Cashdan, 1994; Cooke, et al., 2003; Dovey et al., 2008), children aged around 20-22 months were included in this study. Our expectation was that the more the gustatory/olfactory reactivity is high, the more the child is neophobic. An additional goal was to examine whether reactivity and neophobia levels differ according to the gender of the child.

#### Material and methods

#### **Participants**

The present study involved 123 mother/child dyads. They were asked to participate in two sensory tests in our laboratory: a gustatory test when the child was 20 months old (mean age  $\pm$  SD:  $616 \pm 15$  days), and an olfactory test when the child was 22 months old (mean age  $\pm$  SD:  $671 \pm 11$  days). There were in good health at each moment of the sensory tests, more specifically they did not present any otorhinolaryngological infection. Children's and mothers' characteristics are listed in **Table 1**.

**Table 1.** Children characteristics when they participated in the olfactory and gustatory tests, and mothers' characteristics when they completed the questionnaire of child's eating difficulties.

Children characteristics			
Gender (girl:boy)	63:60		
Milk feeding mode at birth (N)*			
Exclusively breastfed	91		
Breast and formula fed	16		
Exclusively bottle fed	13		
Duration of exclusive breastfeeding (mean $\pm$ SD, days)	$91 \pm 61$		
Duration of total breastfeeding (mean $\pm$ SD, days)	$165 \pm 148$		
Mothers' characteristics			
Age (mean $\pm$ SD, years)	33 ± 4		
% of caesarean section	16.4		

<sup>\*</sup>Data are missing for three children

#### Context and ethical condition

The present data were collected in the context of a larger programme, named OPALINE (Observatory of food preferences in infants and children), which aimed at understanding the formation of food preferences from birth up to two years of age. Participating mothers were recruited before or during the last trimester of pregnancy using leaflets left at health professionals and in day-care centres. To be included in the cohort, both parents had to have reached 18 years old (legal majority), and infants had to be in good health conditions at birth. The aims and methods of the study were explained to both parents in great details. Written and informed consent was obtained from both parents for all infants.

The study was conducted according to the Declaration of Helsinki, and was approved by the local ethical committees (Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche

Biomédicale de Bourgogne, and Comité pour la Protection des Personnes EST-I Burgundy). We certify that all applicable institutional and governmental regulations concerning the ethical use of human volunteers were followed during this research study.

#### Material

The procedure and the stimuli were fully described elsewhere for the gustatory test (Schwartz, Issanchou, & Nicklaus, 2009) and for the olfactory test (Wagner, Issanchou, Chabanet, Marlier, Schaal, & Monnery-Patris, 2013), and are summarized below.

#### *Material for the gustatory test*

For each of the five tastes, a solution was made from mineral water (Evian<sup>®</sup>; Danone Group, Paris, France) and from food-grade or pharmacological-grade tastants (Jerafrance, Jeufosse, France). The molecules were chosen as they could have been encountered by the infant in amniotic fluid during pregnancy, or in his/her diet either in breast or formula milk or in solid foods: lactose for sweet taste, sodium chloride for salty taste, urea for bitter taste, monosodium glutamate for umami taste, and citric acid for sour taste. The concentrations were chosen to generate moderate intensities in order to avoid stereotypical reactions but to favour observations of varied reactions for a given taste. Control stimuli were also used and consisted in mineral water. Solutions were presented at room temperature in commercially available 150 ml plastic bottles fitted with the nipple that the infant was used to (same shape and same material), according to the information provided by the mother before the test sessions

#### *Material for the olfactory test*

The olfactory stimuli consisted in 8 odorants representing diverse foods. Four odorants (strawberry, peach/apricot, apple, and vanillin) represented food odours that were considered as *a priori* pleasant (strawberry, peach/apricot, apple, and vanilla), and 4 odorants (2-isobutyl-3-methoxypyrazine, trimethylamine, dimethyl disulfide, butyric acid) represented food odours that were considered as *a priori* unpleasant (green vegetables, fishes, sulphurous vegetables, and cheeses). Control stimuli were also used and consisted in mineral oil. All the stimuli were presented in a nipple-less, transparent infant-ergonomic bottles (12 x 6 cm, opening diameter of 2.3 cm; Tex, Carrefour, France).

#### Assessment of children's neophobia

The questionnaire of Rigal *et al.* (2012), including four dimensions of children's eating difficulties (neophobia, pickiness, low appetite and low food enjoyment) was used. Only data on the neophobia dimension are reported in the present study. This dimension included 3 items *(my child spontaneously accepts to try a novel food (Reversed score); pulls a face when offered a novel food; refuses new foods on merely seeing them).* Mothers were asked to rate their answer on a 5-point scale, ranging from "very wrong" (1) to "very true" (5) for my child.

#### Procedure

The assessment of both gustatory and olfactory reactivity took place in the CSGA (Dijon, France). Infants were individually welcomed in a room especially designed for infant testing in the presence of one of their parents. To limit variability (between and within infants) in thirst and hunger state and its potential impact on acceptance of the different tastes and odorants, parents were asked not to feed their infants 1 hour before the gustatory test and 1.5

hour before the olfactory test. Compliance with this instruction was checked before the beginning of the session by asking the parent when the last infant' meal occurred. A familiarization phase took place before the beginning of the tests in order to accustom the infants to the room and the experimenters.

#### Assessment of gustatory reactivity

The full procedure is described elsewhere (Schwartz et al., 2009) and summarized here. The gustatory test consisted of brief sequential presentations of bottles containing either a taste solution or water. For each taste, a fixed sequence of four bottles (water – taste – taste – water) was presented to the infant by the experimenter to limit any parental influence. Within a sequence, each bottle was presented for 45 s with a 15 s pause between bottles. If the bottle was not readily accepted by the infant, it was offered several times for 45 s; its presentation stopped only if the infant rejected it strongly, when he/she cried vigorously for example. Between each sequence of four bottles, a pause of at least 1 min was allowed. Volumes presented were limited to 50 ml, except for urea, the volume for which was limited to 15 ml. To determine ingestion, bottles were weighed before and after consumption to the nearest 0.1g (Sartorius U3600S; Sartorius AG, Göttingen, Germany). Four carefully trained experimenters carried out the experiment. To begin the presentation of a bottle, the nipple was lightly rubbed against the lips.

Gustatory behavioural variables. For each taste, analysis was restricted to infants who consumed at least 1.0 g from two bottles over a sequence. Liking was evaluated using an ingestion ratio (IR) based on volume consumed.

Gustatory liking scores. For each taste, the IR was defined as the ingestion volume of this taste relative to the sum of ingestion volumes of this taste and of water (i.e.  $IR_{saltytaste} = total$  ingested volume of salt solution / (total ingested volume of salt solution + total ingested

volume of water)). A ratio of 0.5 indicates equal consumption of water and of the taste solution, i.e. indifference to the taste. In contrast, a ratio higher than 0.5 indicates a preference for the taste over water and a ratio lower than 0.5 indicates a rejection of the taste over water. Using a proportional variable makes comparisons across ages and across individuals possible, eliminating individual- and age-related differences in sucking behaviour. The IR spanned from 0 to 1.

Gustatory reactivity scores. To assess within-subject variability of reactions, namely the infant's global taste reactivity across the five tastes, one variable derived from IR was defined taking into account data from all assessed tastes. The gustatory reactivity was defined as the standard deviation of the five IRs. The analysis was restricted to children for whom ratios were assessed at least for three tastes out of five. The higher this score, the more the infant reacted differently to the different tastes.

#### Assessment of olfactory reactivity

The procedure of the olfactory test is fully described elsewhere (Wagner et al., 2013) and summarized here. The bottles were successively presented to the infants in sequences of 3 bottles: control, followed by a pleasantly odorized bottle and then an unpleasantly odorized bottle. A session was composed of 4 sequences. Each bottle was presented during 30 s. A 5 to 15 min break occurred after the presentation of the second sequence.

Olfactory behavioural analyses. All tests were videotaped in order to analyse the infants' spontaneous exploratory behaviour towards the bottles. We focused on mouthing behaviour which was defined as direct contact between the infant's perioral and/or perinasal areas with the opening of the bottle. This behaviour reflects attraction towards odours (see Wagner et al.,2013 for details). The videos were analysed frame-by-frame using the Observer software (Noldus, Wageningen, The Netherlands) to measure the duration of mouthing behaviour of

infants towards the test bottles. Each mouthing duration was corrected by the duration of inaccessibility of the bottle (e.g., if the bottle drop onto the floor).

Olfactory liking scores. For each odorant, data were computed to an olfactory score defined as the corrected mouthing duration of an odorized bottle relatively to the sum of the corrected mouthing duration of the odorized bottle and the corresponding control bottle in the sequence. A score of 0.5 indicates an indifference to the odorant. A score higher than 0.5 indicates an attraction while a score lower than 0.5 indicates an avoidance of the odorant compared to the control. The score has not been calculated when the control bottle was not mouthed in order to avoid noise in the data. Indeed, in this case, the score does not depend on the duration of mouthing of the odorized bottle, and is systematically equal to 1. Avoiding noise in the data gives more power for assessing the links between early exposures and infants olfactory responses.

Olfactory reactivity scores. To assess within-subject variability of reactions, namely the infant's global olfactory reactivity across the 8 odours, one variable derived from the olfactory liking scores was defined taking into account data from all assessed odours. The olfactory reactivity was defined as the standard deviation of the 8 olfactory scores. The analysis was restricted to infants for whom olfactory scores were assessed at least for 3 odours out of 8. The higher this score, the more the infant reacted differently to the different odours.

#### Assessment of children's neophobia

The questionnaires on children's eating difficulties were distributed at the end of the olfactory test. They were filled in at home by one parent and returned in sealed envelopes. For each child, a neophobia score was calculated according to the answer from the questionnaire.

Statistical analysis

Links between olfactory and gustatory reactivity scores were assessed using Kendall

correlations.

Links between olfactory reactivity scores and neophobia scores, and also between gustatory

reactivity scores and neophobia scores were assessed using Kendall correlations. According to

our hypotheses, i.e. positive correlations were expected between gustatory or olfactory

reactivity and neophobia scores. Therefore, unilateral tests were performed.

Finally, Wilcoxon tests were performed to assess whether the gustatory/olfactory reactivity

scores were significantly different between girls and boys. A Wilcoxon test was also

performed to assess whether the neophobia scores were significantly different between girls

and boys.

The statistical analyses were carried out with R version 3.0.1.

Results

Description of the scores

The gustatory reactivity scores ranged from 0.02 to 0.36; the olfactory scores ranged from

0.04 to 0.58. The neophobia scores varied from 1 to 4.67. No significant effect of gender was

described on gustatory reactivity (p=0.45), on olfactory reactivity (p=0.89) and on neophobia

scores (p=0.71) (Figure 1).

149

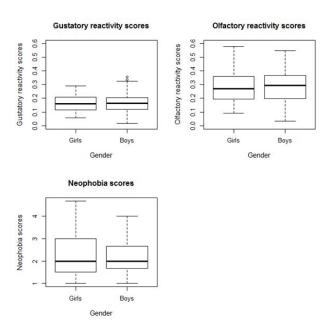


Figure 1. Gustatory reactivity, olfactory reactivity and neophobia scores by gender.

Links between olfactory and gustatory reactivity scores

No significant association between the level of olfactory reactivity and the level of gustatory reactivity in children was found (tau=0.06, p=0.46), suggesting that olfactory reactivity and gustatory reactivity are two independent components of chemosensory behaviours.

Links between olfactory/gustatory reactivity scores and food neophobia scores

Significant correlations were reported only between olfactory reactivity and children's neophobia scores (tau=0.12, p=0.04), but not between gustatory reactivity and children's neophobia scores (tau=0.04, p=0.29).

#### Discussion

The first aim of this study was to examine the links between gustatory reactivity and olfactory reactivity in preschool children using, for the first time, an experimental design involving a

large set of odours and tastes. The results revealed that the global taste reactivity across the five tested tastes was not significantly associated with the global olfactory reactivity across the eight tested odours. This result suggests that children who react the most differently to different tastes are not necessarily the same than those who react the most differently to different odours. Thus, it seems that chemosensory reactivity is not only the expression of a general behavioural individual trait, but is relatively specific to smell and to taste. The present study highlights the need to study the links between olfactory reactivity as well as gustatory with eating behaviours separately.

Our study highlights a significant and positive association between children's olfactory reactivity and neophobia, but not between gustatory reactivity and neophobia. This finding is new. It highlights that neophobic children would be more responsive to olfactory cues than less neophobic children. However, neophobic children seem not to react differently to gustatory cues than less neophobic children. It could be argued that neophobic children may initially reject unknown foods on olfactory cues, before any ingestion. Harris (1993) described that some food rejections may happen primarily within the visual domain, not during tasting of the food. Therefore, foods that do not 'look right' to the child will be initially rejected based on vision alone—for example, green vegetables. When foods are on the plate, their odour could also be perceived before eating. The results of the present study may indicate that foods that do not 'smell good' for neophobic children may be initially rejected based on olfactory cues alone, before any ingestion. The results of the present study are strengthened by a recent finding (Bunce, and Gibson, 2012). In fact, the results of this study indicated that neophobic children sniffed further away from the foods than less neophobic children did, even if the foods are familiar. All together, these data corroborate the idea that the olfactory system act as an alarm system warning about a potential danger or foods that are potentially toxic, preventing the organism to ingest food with strong flavour which could be harmful. Our study suggests that an exacerbate reactivity to olfactory food cues may operate only in neophobic children, and this reactivity alerts them before any ingestion.

In the present study, no significant link between gustatory reactivity and children's neophobia was observed. Moreover, gustatory reactivity scores were not different between girls and boys. These results appeared divergent from those of Tsuji et al (2012). These authors showed, in 3-6 year-old boys only, a higher intake of soy foods associated with a lower neophobia scores in PROP tasters but not in non-tasters. Three main differences between the two studies may partially explain these divergences. Firstly, the PROP status of the children was not described here, but a global gustatory reactivity to five tastes. Secondly, no data on food intake are reported here. Thirdly, the participants were younger (20-22 months) than in the Tsuji et al's study. The age range in our study coincides with the onset of food neophobia, whereas the age range in the Tsuji et al's study (3-6 years) corresponds to a pick in the neophobia period (Dovey et al., 2008). Moreover, it is interesting to observe that the results of Tsuji et al. did not actually describe a direct association between neophobia score and taste sensitivity, but a variation of intake according to PROP status and to neophobia scores. Thus, the understanding of the links between food neophobia and taste reactivity, when children are growing, needs further investigations. One could argue that during the pick of food neophobia (between approximately 2-6 years of age), children might be more reactive to taste of foods than during the first two years of life generally described as a favourable period for introduction of new foods (Cashdan, 1994).

#### Conclusion

This study reveals that children who react differently to different odours are not necessarily those who react differently to different tastes. In addition, we showed that the higher the olfactory reactivity, the more the child is perceived as neophobic. Because of the cross-sectional design, we could not determine cause—effect associations. Finally, no link was observed between gustatory reactivity and children's food neophobia. A better understanding of the link between children's chemosensory reactivity and food neophobia appears essential in developing strategies to improve the quality of children's dietary intake.

#### Acknowledgements

The present study was carried out with the financial support of the Regional Council of Burgundy, IFR92, PRNH-INRA-INSERM and the Agence Nationale de la Recherche (ANR; The French National Research Agency) under the 'Programme National de Recherche en Alimentation et Nutrition Humaine' (project ANR-06-PNRA-028, OPALINE). The present study, labelled by Vitagora® (The Taste, Nutrition and Health Innovation Pole), was supported by grants from Blédina, Nestlé, Symrise and Cedus. C. Schwartz wishes to thank the Benjamin Delessert Institute for the 'Prix de Recherche' 2008. The authors wish to thank the infants and parents who took part in the present study, and the experimenters: A Vincent, A Fornerol, R Bouhalassa, E Szleper, J Pierard, V Feyen, F Durey; V De Anfrasio for data collection; and C Gulluscio for behavioural analyses. We are grateful to the OPALINE team for its general support, in particular to C. Laval, and V. Boggio.

#### References

Addessi, E., A. T. Galloway, E. Visalberghi, & L.L. Birch. (2005). Specific social influences on the acceptance of novel foods in 2-5-year-old children. Appetite 45: 264-271.

Bell, K. I. and B. J. Tepper (2006). Short-term vegetable intake by young children classified by 6-n-propylthoiuracil bitter-taste phenotype. American Journal of Clinical Nutrition 84: 245-251.

Birch, L. L. and J. O. Fisher (1998). Development of eating behaviors among children and adolescents. Pediatrics 101: 539-549.

Blissett J, Fogel A.(2013). Intrinsic and extrinsic influences on children's acceptance of new foods. Physiology & Behavior 28. doi: 10.1016/j.physbeh.2013.02.013.

Blossfeld, I., A. Collins, S. Boland, R. Baixauli, M. Kiely, and C. Delahunty (2007). Relationships between acceptance of sour taste and fruit intakes in 18-month-old infants. British Journal of Nutrition 98: 1084-1091.

Bunce, C. and E.L. Gibson (2012). Sniffing, eating and disgust in food neophobic children. Appetite 59: 622.

Cashdan E. (1994). A sensitive period for learning about food. Human Nature 5: 279-291.

Cooke L, Carnell S, Wardle J (2006). Food neophobia and mealtime food consumption in 4–5 year old children. International Journal of Behavioral Nutrition Physical Activity 3: 14.

Cooke L, Wardle J, Gibson E (2003). Relationship between parental report of food neophobia and everyday food consumption in 2–6-year-old children. Appetite 41: 205–206.

Cooke L, Wardle J, Gibson E, Sapochnik M, Sheiham A, Lawson M (2004). Demographic, familial and trait predictors of fruit and vegetable consumption by pre-school children. Public Health Nutrition 7: 295–302.

Coulthard, H. and J. Blissett (2009). Fruit and vegetable consumption in children and their mothers: moderating effects of child sensory sensitivity. Appetite 52: 410-415.

Dovey, T. M., P. A. Staples, E.L. Gibson, and J.C. Halford. (2008). Food neophobia and 'picky/fussy' eating in children: A review. Appetite 50: 181-193.

Drewnowski, A. (1997). Taste preference and food intake. Annual Review of Nutrition 17: 237-253.

Falciglia, G. A., S. C. Couch, Gribble, Pabst, and Frank (2000). Food neophobia in childhood affects dietary variety. Journal of the American Dietetic Association 100: 1474-1481.

Farrow, C.V. and H. Coulthard (2012). Relationships between sensory sensitivity, anxiety and selective eating in children. Appetite 58: 842–846.

Galloway, A. T., Y. Lee, and L.L. Birch (2003). Predictors and consequences of food neophobia and pickiness in young girls. Journal of the American Dietetic Association 103: 692-698.

Gibson EL, J. Wardle, and CJ. Watts (1998). Fruit and vegetable consumption, nutritional knowledge and beliefs in mothers and children. Appetite 31: 205–28.

Keller, K. L., L. Steinmann, et al. (2002). Genetic taste sensitivity to 6-n-propylthiouracil influences food preference and reported intake in preschool children. Appetite 38: 3-12.

Liem, D. G., R. P. Bogers, et al. (2006). Fruit consumption of boys (8-11 years) is related to preferences for sour taste. Appetite 46: 93-96.

Lumeng, J. C., T. M. Cardinal, et al. (2008). Ability to Taste 6-n-Propylthiouracil and BMI in Low-income Preschool-aged Children. Obesity 16: 1522-1528.

Maier AS, C. Chabanet, B. Schaal, P. Leathwood, and S. Issanchou (2008). Breastfeeding and experience with variety early in weaning increase infants' acceptance of new foods for up to two months. Clinical Nutrition 27: 849–57.

Nicklaus, S., C. Chabanet, V. Boggio and S. Issanchou. (2005). Food choices at lunch during the third year of life: increase in energy intake but decrease in variety. Acta Pædiatrica 94: 1023-1029.

Northstone K, P. Emmett, F. Nethersole (2001). ALSPAC Study Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. The effect of age of introduction to lumpy solids on foods eaten and reported feeding difficulties at 6 and 15 months. Journal of Human Nutrition and Dietetics 14: 43–54.

Pelchat, M. L. and P. Pliner (1995). Try it. You'll like it. Effects of information on willingness to try novel foods. Appetite 24: 153-166.

Pliner, P. and K. Hobden (1992). Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. Appetite 19: 105-120.

Rigal, N., C. Chabanet, S. Issanchou, and S. Monnery-Patris. (2012). Links between maternal feeding practices and children's eating difficulties. Validation of French tools. Appetite 58: 629–637.

Schwartz, C., C. Chabanet, C. Lange, S. Issanchou, S. Nicklaus (2011). The role of taste in food acceptance at the beginning of complementary feeding. Physiology & Behavior 104: 646-652.

Schwartz, C., S. Issanchou, S. Nicklaus (2009). Developmental changes in the acceptance of the five basic tastes in the first year of life. British Journal of Nutrition 102: 1375-1385.

Schwartz, C., P. Scholtens, et al. (2011). Development of healthy eating habits early in life: review of recent evidence and selected guidelines. Appetite 57: 796-807.

Skinner, J. D., B. R. Carruth, et al. (2002). Children's food preferences: A longitudinal analysis. Journal of the American Dietetic Association 102: 1638-1647.

Solbu, E. H., F. K. Jellestad, et al. (1990). Children's sensitivity to odor of trimethylamine. Journal of Chemical Ecology 16: 1829-1840.

Tsuji M., K. Nakamura, Y. Tamai, K. Wada, Y. Sahashi, K. Watanabe, et al. (2012). Relationship of intake of plant-based foods with 6-n-propylthiouracil sensitivity and food neophobia in Japanese preschool children. European Journal of Clinical Nutrition 66: 47-52.

Wagner, S., S. Issanchou, C. Chabanet, L. Marlier, B. Schaal, S. Monnery-Patris (2013). Infants' hedonic responsiveness to food odours:a longitudinal study during and after weaning (8, 12 and 22 months). Flavour 2: 19.

Wardle, J., M. L. Herrera, et al. (2003). "Modifying children's food preferences: the effects of exposure and reward on acceptance of an unfamiliar vegetable." European Journal of Clinical Nutrition 57: 341-348.

World Health Organization (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO, Technical Report Series No. 916.

#### Que retenir de l'étude des liens entre réponses olfactives et comportement alimentaire ?

#### Lien entre réponses olfactives et appréciation alimentaire

Les relations entre les réponses olfactives et l'appréciation des aliments diffèrent selon les âges étudiés. A 8 mois, lors de la période de diversification alimentaire, aucune relation n'a été mise en évidence entre les réponses olfactives et l'appréciation des aliments nouvellement introduits. Ce résultat suggère que durant cette période favorable à l'introduction de nouveaux aliments, la composante olfactive aurait relativement peu d'impact.

A 12 et 22 mois, nous observons une asymétrie des liens entre les réponses olfactives et l'appréciation alimentaire selon la valence hédonique des odeurs. Aucun lien n'a été observé entre les réponses envers les odeurs agréables et l'appréciation des aliments porteurs de ces odeurs.

En revanche, à 12 mois, au moment de la transition alimentaire, des liens entre les réponses envers les odeurs désagréables et l'appréciation des aliments à flaveur prononcée ont été observées. Ces liens n'ont pas été retrouvés à 22 mois. Ces résultats suggèrent que le système olfactif peut agir comme un système d'alarme en protégeant l'organisme de l'ingestion d'aliments à flaveur prononcée potentiellement dangereux.

A 22 mois, seul un lien marginal a été observé entre les réponses à l'odeur de légumes verts et l'appréciation des légumes verts.

#### Lien entre réactivité chimiosensorielle et néophobie alimentaire

Chez le jeune enfant de 20-22 mois, la réactivité olfactive est relativement indépendante de la réactivité gustative. En d'autres termes, un enfant réactif au plan olfactif ne l'est pas systématiquement au plan gustatif.

La réactivité olfactive de l'enfant est associée à son degré de néophobie alimentaire. Plus il est réactif au plan olfactif, plus il est décrit comme néophobe. Aucune association entre néophobie et réactivité gustative n'a cependant été observée.

En somme, la stimulation olfactive intervenant avant toute mise en bouche de l'aliment, et avant toute perception de la saveur des aliments, nous pouvons supposer que les odeurs contribuent à la méfiance des aliments chez l'enfant néophobe.

### **Chapitre 6**

## Discussion générale

Le présent travail nous a permis :

- 1) d'évaluer la dynamique des réponses olfactives des nourrissons au cours des deux premières années de vie,
- 2) d'étudier l'impact des expositions aromatiques précoces sur cette dynamique,
- 3) de comprendre les liens entre réponses olfactives et comportement alimentaire.

Dans cette partie, nous discuterons chacun de ces points.

## 1. Réponses olfactives et leurs dynamiques au cours des deux premières années de vie

#### 1.1. Principaux résultats concernant les réponses olfactives

Le présent travail s'inscrit dans le contexte de l'étude des réponses hédoniques face à des odeurs alimentaires au cours des deux premières années de vie. Jusqu'à aujourd'hui, peu d'auteurs s'étaient intéressés aux réponses hédoniques des nourrissons de 1 mois à 2 ans face aux odeurs (Delaunay- El Allam *et al.*, 2010; Durand *et al.*, 2008; Mennella & Beauchamp, 1998a; Schmidt & Beauchamp, 1989; Schmidt, 1990). Les résultats de ces études antérieures ne permettaient pas de trancher sur les réponses en fonction de la valence hédonique des odeurs lors de la prime enfance.

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés, d'une part, aux réponses olfactives globales, en comparant les moyennes des scores des quatre odeurs agréables et celles des scores des quatre odeurs désagréables, et d'autre part, aux réponses olfactives spécifiques en considérant chacune des odeurs étudiées.

Concernant les réponses olfactives globales, les nourrissons de 8, 12 et 22 mois ont des comportements de mise en bouche différents envers les biberons contenant des odeurs *a priori* désagréables et ceux contenant des odeurs *a priori* agréables. Ce premier constat nous permet de conclure que les nourrissons sont capables de discriminer la valence hédonique des odeurs.

Lorsque l'on s'intéresse au profil odorant par odorant, on s'aperçoit que les réponses des nourrissons en termes d'attraction et d'évitement pour chaque odorant comparé à un contrôle ne sont pas très tranchées. En effet, notre travail a permis de montrer que :

- A 8 mois, les nourrissons ne manifestent pas de réponses d'évitement marquées face aux odeurs désagréables. Nous avons toutefois noté que les nourrissons tendent à éviter les odeurs de poissons, fromages et légumes soufrés.
- A 12 mois, les nourrissons manifestent des réponses d'évitement, se traduisant par une mise en bouche plus faible par rapport au contrôle, face aux odeurs de poissons et de légumes soufrés,
- A 22 mois, les nourrissons manifestent des réponses d'évitement face aux odeurs de légumes soufrés et de fromages. De façon inattendue, des réponses d'évitement ont également été observées face à l'odeur de vanille, pourtant considérée *a priori* agréable. Ce point a fait l'objet d'une discussion dans l'article 1 présenté page 69.
- A aucun des âges étudiés, les nourrissons n'expriment des réponses d'attraction envers les odeurs agréables, à l'exception d'une attraction marginale envers l'odeur de pomme à 22 mois. En d'autres termes, seules des réponses d'évitement face aux odeurs désagréables sont observées.

L'absence de réponses d'évitement marquées à 8 mois pourrait être due aux expositions aromatiques précoces. En effet, nous avons vu dans l'article 2, qu'à 8 mois, les réponses olfactives envers certaines odeurs désagréables (légumes verts, poissons et fromages) sont influencées positivement par les expositions aromatiques *in utero* et durant l'allaitement.

Jusqu'à l'âge de 22 mois, globalement, les odeurs agréables semblent être traitées comme neutres. Nos résultats confirment ceux de Soussignan *et al.* (1997) chez le nouveauné. En effet, ces auteurs ont montré que les nouveaunés manifestent des mimiques de dégoût notables envers l'acide butyrique et la vanilline; ces mimiques de dégoût étant plus marquées envers l'acide butyrique qu'envers la vanilline. En revanche, la proportion d'enfants manifestant des mimiques faciales comme le « sourire » ne diffère pas entre ces deux odeurs. Nous pouvons alors émettre l'hypothèse que les réponses de rejet et d'évitement sont plus discriminantes que les réponses d'attraction au cours des deux premières années de vie. En somme, il conviendrait de conclure que les réponses hédoniques négatives se manifestent plus précocement et plus nettement que les réponses hédoniques positives. La littérature suggère qu'après l'âge de 3 ans, les enfants commencent à manifester de l'attraction envers les odeurs *a priori* agréables. Une étude électrophysiologique a montré une augmentation de la latence des ondes P2 entre les enfants âgés de 3,5 à 5 ans et ceux âgés de 6 à 10 ans (Hummel *et al.*, 2007). Les auteurs suggèrent qu'en grandissant, les enfants accordent plus de sens aux odeurs.

De plus, dans cette étude, il est apparu que l'augmentation de la latence de ces ondes était reliée à l'amélioration des compétences d'identification. Par ailleurs, il a été mis en évidence que le nombre d'odeurs catégorisées comme agréables augmente entre 3 et 5 ans (Rinck *et al.*, 2011). Toutefois, cette augmentation de l'appréciation n'est trouvée que chez les enfants ayant des capacités verbales élevées. Les performances langagières semblent ainsi être liées aux réponses hédoniques des enfants. De plus, il a été montré, chez des enfants de 5-6 ans, que le fait d'attribuer un nom à une odeur jugée neutre, comme la menthe ou la banane, permet une augmentation de son appréciation (Bensafi *et al.*, 2007). Nous pouvons supposer que le fait de pouvoir mettre un nom sur une odeur et ainsi la rattacher à un contexte permet de réduire l'inconnu et d'accroître sa familiarité. Cette dernière est connue pour être associée à l'appréciation d'une odeur chez l'adulte (Ayabe-Kanamura *et al.*, 1998; Delplanque *et al.*, 2008). Il convient alors de penser que le caractère agréable d'une odeur s'apprend au fil des expériences et cette familiarité est consolidée avec le développement du langage permettant de reconnaitre et d'identifier une odeur.

#### 1.2. Principaux résultats de la dynamique des réponses olfactives

L'étude longitudinale des réponses olfactives a mis en évidence une augmentation des réponses d'évitement entre 8 et 22 mois. Il semblerait ainsi que les comportements d'évitement se renforcent lorsque l'enfant grandit, notamment à partir de 22 mois, période marquée par l'apparition progressive de la néophobie alimentaire (Dovey *et al.*, 2008).

Par ailleurs, nos résultats ont mis en lumière un faible nombre de corrélations entre les réponses aux odeurs à deux âges successifs suggérant des différences individuelles dans le développement des réponses hédoniques aux odeurs. Nous pouvons supposer que cette plasticité des réponses hédoniques au cours de la prime enfance est modulée par le contexte et l'expérience, qu'ils soient positifs ou négatifs. En effet, des études se focalisant sur le conditionnement olfactif chez le nouveau-né de moins de 48 heures, ont montré que le fait de présenter une odeur de citron durant un massage de 25 secondes conduit, le lendemain, à l'augmentation de l'attrait, *i.e.* orientations céphaliques plus importantes, pour l'odeur de citron (Sullivan *et al.*, 1991). A l'inverse, l'association d'une odeur à un contexte d'échec chez des enfants de 5 ans peut impacter leurs performances ultérieures (Epple & Herz, 1999). Dans cette étude, une tâche impossible à réaliser était proposée aux enfants dans une pièce où était diffusée une odeur d'ambiance. Après une pause de 20 minutes, les enfants étaient

ensuite conviés à réaliser un test cognitif très simple dans une pièce où était diffusée la même odeur d'ambiance, une odeur différente ou aucune odeur. Les résultats ont mis en évidence que les enfants exposés à l'odeur d'ambiance déjà diffusée lors de la tâche impossible ont des performances plus faibles lors du test cognitif que les enfants non exposés à une odeur ou exposés à une odeur différente. Ainsi, une odeur associée à un échec a des conséquences préjudiciables sur une tâche impliquant un challenge cognitif. Il a également été montré chez l'adulte que la représentation hédonique des odeurs n'est pas fixe et qu'elle peut être modifiée par l'apprentissage et l'expérience (Barkat *et al.*, 2008; Prescott *et al.*, 2008).

Bien que très peu de corrélations entre les réponses aux odeurs à deux âges successifs aient été trouvées, les rares associations observées concernent uniquement des odeurs désagréables, à savoir l'acide butyrique et le disulfure de diméthyle. Nos résultats sont en accord avec les résultats d'une étude ayant montré que des odeurs renvoyant à des aliments dégradés (beurre rance) ou toxiques (orange moisie) sont jugées désagréables dès 3 ans et ce jugement reste stable jusqu'à l'âge de 5 ans (Rinck *et al.*, 2011). Notre étude et celle de Rinck *et al.* (2011) s'accordent sur le fait que l'odeur d'acide butyrique, renvoyant une note de beurre rance ou fromage, est évitée par les nourrissons et continue d'être jugée désagréable par les enfants au moins jusqu'à l'âge de 5 ans. Ainsi, les odeurs liées à des aliments potentiellement dangereux, voire toxiques, sont considérées comme désagréables très tôt au cours de l'ontogenèse et sont par conséquent évitées. Ces comportements restent présents quand l'enfant grandit. Nous pouvons supposer qu'au début de la vie le système olfactif agirait davantage comme un système d'alarme que comme un système de détection de la connotation hédonique des stimulations chimiques décrit par Steiner (1977).

# 2. Influence des expositions aromatiques précoces sur les réponses olfactives

Ce travail a permis d'étudier l'impact des expositions aromatiques *in utero* ou *via* le lait maternel, inférée à partir de la consommation de la mère durant la grossesse ou l'allaitement, ainsi que l'impact des expositions alimentaires durant la diversification alimentaire sur les réponses olfactives des nourrissons au cours de la première année de vie.

Les expositions *in utero* aux arômes de légumes verts et fromages soufrés influencent positivement les réponses olfactives vis-à-vis des odeurs de légumes verts et de fromages

soufrés, respectivement. Les expositions *via* le lait maternel aux arômes de poissons et de légumes verts influencent positivement les réponses olfactives vis-à-vis des odeurs de poissons et de légumes verts, respectivement.

L'absence de lien observée entre les expositions alimentaires durant la période de diversification et les réponses olfactives à 8 mois pourrait être due à un délai relativement court entre l'exposition et le moment du test olfactif. Il a été montré dans la littérature qu'un délai court (4 heures) entre l'exposition à un lait hypoallergénique et le test évaluant l'acceptation des enfants envers des purées de brocoli/chou-fleur, caractérisées par la présence de composés volatils soufrés similaires à ceux présents dans ces formules infantiles, résulte en une faible acceptation des purées testées (Mennella et al., 2006). Les auteurs suggèrent un effet de rassasiement sensoriel spécifique. Ce dernier est défini comme une diminution à court-terme de l'appréciation pour un aliment qui vient d'être consommé. Il semble que cet effet ne soit pas limité à la période suivant immédiatement le repas. En effet, un délai de 4 jours entre l'exposition et test semble également conduire à une diminution de la consommation (Mennella & Beauchamp, 1999). De fait, un délai court entre l'exposition et la mesure d'acceptation pourrait induire une diminution de l'appréciation. Par contre, un délai de quelques années entre l'exposition à un lait hypoallergénique et un test visant à évaluer l'acceptation du même lait hypoallergénique conduit à une appréciation plus importante de la flaveur et de l'odeur de cette formule infantile (Mennella & Beauchamp, 2002). Bien que ces études aient été conduites dans un contexte alimentaire (acceptation d'aliments), nous pouvons supposer qu'un mécanisme similaire soit observable dans un contexte olfactif (acceptation d'odeur).

En revanche, aucun lien n'a été mis en exergue entre les réponses aux odeurs agréables et les aliments porteurs de ces odeurs. Rappelons que la plupart des odeurs agréables étudiées étaient des odeurs de fruits. Cette absence de lien pourrait être due à la composition en composés volatils des fruits. En effet, les fruits contiennent généralement des esters (Young *et al.*, 2004; Zabetakis & Holden, 1997). Parmi les études portant sur la composition en molécules volatiles des laits maternels, seul Shimoda *et al.* (2000) a mis en évidence la présence de quelques esters dans le lait maternel, bien que certains étaient présents à l'état de traces. Toutefois, dans cette étude, aucune information n'était demandée aux mères quant à leur consommation alimentaire. Une étude plus expérimentale a consisté à demander aux mères allaitantes d'ingérer une capsule contenant un ester de fruits, puis leur lait était collecté 2 à 8 heures après l'ingestion afin de d'évaluer le transfert de ce composé dans le lait maternel (Hausner *et al.*, 2008). Les résultats de cette étude ont mis en avant que

l'ester cible n'était pas retrouvé dans le lait maternel. Ainsi, certaines molécules de cette classe chimique sont peu transférées dans le lait maternel. En raison de ce faible transfert, il est possible que les nourrissons n'aient pas été exposés aux composés clés responsables de l'odeur des fruits testés. Ainsi, l'odeur perçue par le fœtus *in utero* ou par le nourrisson lors de l'allaitement serait différente de celle présentée dans le test olfactif. Or, l'étude menée par Forestell & Mennella (2007) montrent que les enfants allaités au sein acceptent davantage les pêches lors de leur première introduction par rapport aux enfants ayant été nourris au lait infantile. Les auteurs rapportent une consommation plus importante de fruits des mères allaitantes et suggèrent que cette acceptation serait due à une exposition plus importante aux fruits via le lait maternel. Cependant, cette étude compare uniquement un groupe d'enfants allaités au sein et un groupe d'enfants nourris au lait infantile. Afin de conclure à un effet spécifique de l'exposition aux fruits, il aurait été judicieux de comparer des enfants allaités au sein ayant été exposés à des fruits et d'autres n'y ayant pas été exposés. En l'absence de cette comparaison, il est possible de supposer que les résultats observés sont dus à l'effet de l'allaitement qui, comme nous l'avons vu dans le chapitre 1, favoriserait l'acceptation de nouvelles flaveurs par le fait qu'il expose les nourrissons à une variété d'arômes (Hausner et al., 2010; Maier et al., 2008; Sullivan & Birch, 1994).

Bien que des liens entre expositions aromatiques, *in utero* et *via* le lait maternel, et réponses olfactives envers les odeurs désagréables aient été observés à 8 mois, aucun lien n'a été observé à 12 mois. Il semble ainsi que les expositions précoces confèrent un avantage pour l'acceptation des odeurs en début de de diversification alimentaire, puis les effets deviendraient négligeables face aux effets de stratégies alimentaires employées par les parents comme les expositions répétées par exemple (Hausner *et al.*, 2010).

# 3. Relation entre réponses olfactives et comportement alimentaire

## 3.1. Relation entre réponses olfactives et appréciation des aliments

L'étude de l'appréciation alimentaire des nourrissons a révélé une appréciation élevée pour chaque catégorie d'aliments au cours des deux premières années de vie. Ce premier constat corrobore les résultats de la littérature indiquant que les deux premières années de vie constituent une période favorable à l'introduction de nouveaux aliments et à la diversification de l'alimentation, sous la supervision des parents, avant l'apparition de la néophobie et de la sélectivité alimentaire (Cashdan, 1994; Nicklaus *et al.*, 2005a; Rigal *et al.*, 2012). Nous avons toutefois noté une diminution de l'appréciation entre les périodes 12-15 et 21-24 mois. Nos résultats, en accord avec ceux de Barends *et al.* (2013), laissent présager l'entrée dans la période de néophobie et de sélectivité alimentaire avant l'âge de 2 ans.

Les relations entre réponses olfactives et appréciation alimentaire diffèrent selon les âges étudiés.

#### Au début de la diversification alimentaire

A 8 mois, lorsque de nouveaux aliments sont introduits aux nourrissons, nous n'avons pas mis en lumière de relation entre les réponses olfactives et l'appréciation des aliments.

Rappelons tout d'abord, que nous avons observé, en accord avec Turberg-Romain *et al.* (2007), que les premiers aliments donnés aux enfants sont présentés, en grande partie, sous forme de purées. Les purées sont bien souvent composées d'un mélange de plusieurs aliments et présenteraient ainsi différentes notes aromatiques relatives à chacun des aliments présents dans le mélange. Il est important de souligner, d'une part, que la présence de certaines notes aromatiques dans un mélange peut conduire à un effet de masquage d'une autre note aromatique (*e.g.* Le Berre *et al.*, 2007), et d'autre part, que l'homme est capable de seulement discriminer et identifier 3 à 4 odorants dans un mélange (Laing, 1994). Bien qu'aucune donnée concernant l'enfant ne soit disponible dans la littérature, nous pouvons supposer des

capacités de discrimination et d'identification de molécules en mélange similaires à celles de l'adulte. Ainsi, il est possible que les notes aromatiques des mélanges ne soient pas toutes discriminées (Voir discussion plus complète dans le chapitre 5 partie 1).

Nous pouvons également émettre l'hypothèse que, lors de la période de diversification alimentaire, les nourrissons sont plus tolérants face aux odeurs, ainsi la composante olfactive aurait un impact moindre sur l'appréciation des aliments nouvellement introduits. Cette hypothèse est soutenue par les résultats des tests olfactifs ne mettant pas en évidence de rejet marqué envers les odeurs désagréables à 8 mois. La diversification alimentaire serait ainsi une période favorable permettant d'assurer l'acceptation d'une vaste majorité d'aliments, quelle que soit leur composante olfactive. Par ce fait, les nourrissons se familiariseraient avec une variété importante d'aliments. La familiarité étant une dimension importante de l'appréciation alimentaire chez les enfants de 3-4 ans (Birch, 1979), l'introduction des aliments durant cette période de diversification favoriserait leur acceptation ultérieure.

#### Au-delà de la période de diversification alimentaire

A 12 et 22 mois, une asymétrie des liens a été observée selon la valence hédonique des odeurs. Des liens ont été observés entre les réponses aux odeurs désagréables et l'appréciation des aliments porteurs de ces odeurs. En revanche, aucun lien n'a été mis en évidence entre les réponses aux odeurs agréables et l'appréciation des aliments porteurs de ces odeurs. Les aliments ont des scores d'appréciations très élevés, il est possible qu'un effet « plafond » explique l'absence de liens (Voir chapitre 5 partie 2 pour une discussion plus détaillée).

A 12 mois, lorsque le répertoire alimentaire du nourrisson passe d'aliments dits « bébés » à des aliments « adultes », des liens ont été mis en évidence entre les réponses olfactives et l'appréciation des aliments à flaveur prononcée (poissons, fromages soufrés et légumes soufrés). Nous pouvons supposer qu'à partir de 12 mois, les aliments présentés aux enfants sont moins souvent des purées et moins souvent des mélanges ; les flaveurs prononcées sont ainsi moins masquées. Ce lien entre réponses olfactives et appréciation des aliments à flaveur prononcée n'est plus observé à 22 mois. Nous pouvons émettre l'hypothèse que les odeurs désagréables joueraient un rôle de modulateur de l'appréciation lorsque le répertoire alimentaire s'ouvre avec l'introduction des aliments dits « adultes » ayant des flaveurs prononcées. Puis, au fur et à mesure des expositions, les aliments deviennent

familiers et les enfants apprennent que les aliments à flaveur prononcée ne présentent pas de danger (Birch & Fisher, 1998), par conséquent les odeurs n'agissent plus comme un signal d'alarme.

A 22 mois, un lien marginal entre les réponses à l'odeur de légumes verts et l'appréciation de ces aliments est observé. Il convient de noter qu'entre les périodes 12-15 et 21-24 mois, une diminution significative de l'appréciation des légumes verts est également décrite. De plus, cette catégorie d'aliments est la moins appréciée entre 21 et 24 mois, période concomitante de l'apparition de la néophobie et de la sélectivité alimentaire. Plusieurs facteurs liés aux aliments peuvent expliquer ce déclin de l'appréciation. En effet, les légumes ont la particularité :

- d'avoir une faible densité énergétique (Gibson & Wardle, 2003). Sachant que les enfants apprennent à associer la flaveur des aliments avec leurs densités énergétiques induisant une conséquence post-ingestive positive (Birch, 1999), il est possible que les légumes ayant une faible densité énergétique ne représentent pas un bénéfice pour l'enfant qui a des besoins énergétiques croissants.
- d'être souvent décrits comme étant amers (Drewnowski, 1997). L'étude OPALINE a mis en avant une diminution de l'appréciation de l'amertume au cours de la seconde année de vie (Schwartz *et al.*, 2009).

Un autre facteur non lié à l'aliment, mais plutôt au contexte de consommation, pourrait également expliquer ce déclin de l'appréciation des légumes verts. En effet, il a été montré que les pratiques parentales peuvent impacter le comportement alimentaire de l'enfant (Rigal *et al.*, 2012). Ainsi, les pressions exercées par les mères sur leurs filles pour consommer des légumes résultent en une consommation moindre de ces aliments (Galloway *et al.*, 2005).

En somme, l'absence de lien à 12 mois et l'apparition à 22 mois permet de suggérer que les réponses aux odeurs de légumes verts à 22 mois pourraient être la conséquence des expériences alimentaires des enfants et non que l'appréciation aux légumes verts serait due aux réponses négatives face aux odeurs de légumes verts.

## 3.2. Relation entre réactivité chimiosensorielle et néophobie alimentaire

Notre travail a également visé à étudier les relations entre réactivité chimiosensorielle et néophobie alimentaire. Dans notre travail, la réactivité réfère aux réponses contrastées des enfants envers l'ensemble des stimulations olfactives ou gustatives. Nos objectifs étaient d'examiner, d'une part, les liens entre la réactivité gustative et la réactivité olfactive chez l'enfant âgé de 20-22 mois, et, d'autre part, les liens entre la réactivité chimiosensorielle (gustative et olfactive) et le comportement néophobique de l'enfant de moins de 2 ans.

Conformément à nos hypothèses, nos résultats mettent en évidence que les réactivités olfactives et gustatives sont relativement indépendantes. Ainsi, un enfant réactif au plan olfactif ne l'est pas systématiquement au plan gustatif.

D'après une étude montrant que la sensibilité aux goûts et aux odeurs, évaluée par questionnaire, est corrélée avec la néophobie alimentaire (Coulthard & Blisset, 2009), nous avions émis l'hypothèse que les réactivités chimiosensorielles (gustative et olfactive) sont liées au comportement néophobique de l'enfant. Notre étude a permis de mettre en évidence un lien entre la réactivité olfactive et le degré de néophobie des enfants de 22 mois. En revanche, la réactivité gustative à 20 mois n'est pas liée au degré de néophobie. Nos résultats ne sont pas en contradiction avec ceux de Coulthard & Blisset (2009) puisque, comme décrit dans le chapitre 1 partie 3.3, ces auteurs ont utilisé un questionnaire permettant d'évaluer la sensibilité olfacto-gustative. Leur étude ne permettait ainsi pas de différencier les composantes olfactives et gustatives. Nos résultats mettent en évidence que la néophobie serait davantage liée à la dimension olfactive qu'à la dimension gustative et soulignent l'importance de différencier ces deux systèmes chimiosensoriels dans les analyses futures.

La littérature décrit le comportement néophobique comme une fonction protectrice évitant l'ingestion d'aliments pouvant contenir des éléments dangereux pour la santé, comme des toxines (Cooke, 2007). Comme indiqué dans le chapitre 1 partie 3.1., la stimulation olfactive par voie orthonasale permet de préparer l'organisme à l'ingestion d'aliments en induisant une salivation ou même la production d'hormones. La néophobie alimentaire et la stimulation olfactive interviennent avant toute mise en bouche de l'aliment, et avant toute perception de leurs saveurs. Sachant que les enfants considérés néophobes gardent une

certaine distance avec un objet à sentir comparés aux enfants non néophobes (Bunce & Gibson, 2012), on peut supposer que les enfants avec un degré de néophobie élevé expriment de la méfiance envers les odeurs.

L'absence de relation entre la réactivité gustative et la néophobie pourrait s'expliquer par le fait qu'une fois, la « peur » de l'aliment dépassée, celui-ci peut être consommé sans danger. Dovey *et al.* (2008) suggèrent que le rejet d'un nouvel aliment intervient avant de le goûter et suggèrent que les causes de rejets puissent intervenir avant toute mise en bouche et être basée sur la vision de l'aliment. Nos résultats permettent d'ajouter que les odeurs peuvent contribuer à la méfiance envers un aliment.

#### 4. Limites

#### 4.1. Limites des mesures olfactives

Trois limites peuvent être soulignées.

La première limite concerne l'ordre de présentation des odorants. L'objectif final de notre étude était de relier les réponses olfactives d'un nourrisson à ses réponses alimentaires. Nous nous sommes alors intéressés aux réponses individuelles des nourrissons envers différentes stimulations olfactives. Nous souhaitions que les nourrissons soient tous dans les mêmes conditions de tests olfactifs. Ainsi, nous avons fixé l'ordre de présentation des odorants afin d'optimiser la coopération du nourrisson lors des tests olfactifs (voir chapitre 2) en proposant une présentation successive des odorants organisée selon des triplets composés d'un contrôle, d'une odeur agréable et d'une odeur désagréable. Nous avions ainsi défini un ordre de présentation unique pour l'ensemble des nourrissons. Or, des pré-tests ont révélé un effet de lassitude au cours du test. Pour pallier cet effet, nous avons décliné 4 ordres de présentation. Sachant qu'une odeur peut être perçue différemment suite à la présentation de différents stimuli (Schaal, 1991), nous avons choisi de garder les triplets constants. Par exemple, l'odeur de poisson suivait toujours l'odeur de pêche/abricot. Cet ordre de présentation (contrôle, odeur agréable puis odeur désagréable) aurait pu induire un biais de réponse en créant un effet de contraste entre contrôle/odeur agréable et entre odeur agréable/désagréable, ainsi qu'un effet de report des odeurs agréables sur les odeurs

désagréables. Le contraste contrôle/odeur agréable aurait pu amplifier la saillance sensorielle des odeurs plaisantes. La perception des odeurs désagréables aurait pu être amplifiée par un effet de contraste odeur agréable/odeur désagréable ou, au contraire, atténuée par un effet de report des odeurs agréables sur les odeurs désagréables. Or, nos résultats ne mettent pas en avant d'attraction envers les odeurs agréables, on peut supposer que l'effet de contraste contrôle/odeur agréable est limité. En ce qui concerne les odeurs désagréables, il est difficile de savoir si un effet de contraste ou un effet de report aurait pu affecter nos résultats. Il est également possible que ces deux effets se soient compensés. Dans tous les cas, nos résultats nous ont révélé des réponses d'évitement envers certaines odeurs désagréables.

La présentation consécutive de stimuli a pu engendrer un effet de lassitude intra-triplet et magnifier les réponses d'évitement face aux odeurs désagréables étant donné qu'ils sont présentés en 3<sup>ème</sup> et dernière position au sein du triplet et comparé au contrôle qui est présenté en première position au sein du triplet. Toutefois, si tel était le cas, nous aurions dû observer un évitement systématique envers les odeurs désagréables. Or, les réponses d'évitement observées dans notre étude sont spécifiques à certaines odeurs désagréables.

Une seconde limite peut être soulevée. Afin que les participants soient tous dans le même état de faim, nous nous assurions qu'ils n'avaient pas consommé d'aliments 1h30 avant le test. Nous n'avons pas observé de réponses d'attraction envers les odeurs agréables. Néanmoins, on peut supposer que des réponses d'attraction face aux odeurs agréables auraient pu être observées en état de faim des participants.

Une troisième limite serait le mode de présentation des odeurs. En effet, les odeurs étaient présentées *via* la voie orthonasale. Or, l'odorat peut être perçu comme un « body gatekeeper » prévenant l'ingestion d'aliment potentiellement dangereux. Les liens étant observés uniquement entre les réponses aux odeurs désagréables et les aliments porteurs de ces odeurs peut s'expliquer par ce mode de présentation qui a une action préventive. Il aurait été intéressant de comparer les résultats obtenus avec des stimulations par voie orthonasale et ceux obtenus avec des stimulations par voie rétronasale. La stimulation de la voie rétronasale aurait pu être réalisée selon 2 méthodes :

- La première aurait consisté en la présentation de solutions aromatiques aux nourrissons. L'attraction envers les arômes aurait été mesurée *via* le volume de solutions ingérées, de la même façon que l'attraction envers les saveurs a été mesurée (Schwartz *et al.*, 2009). Or, la réalisation d'une étude de ce type aurait été difficile

dans notre cas du fait de contraintes méthodologiques et éthiques. La première contrainte méthodologique aurait été liée au nombre de stimuli testés. Le nourrisson aurait été invité à boire autant de biberons qu'il y a de stimuli testés, sans mentionner les biberons contrôles. Ceci aurait résulté en une ingestion d'une quantité importante de solutions et n'était pas envisageable avec des nourrissons. La seconde contrainte méthodologique aurait été liée à la persistance des arômes. En effet, certains arômes ont la particularité d'être persistants en bouche, il aurait ainsi fallu proposer au nourrisson de nombreux rinçages ainsi que des pauses, ce qui aurait allongé le temps de la séance qui était déjà de 50 à 55 minutes. De plus, nous n'avons pas souhaité faire ingérer des solutions aromatiques à des nourrissons compte tenu du fait que dans la pratique actuelle les laits 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> âge ne sont pas aromatisés. De plus, l'ingestion de solutions aromatiques aurait pu engendrer un refus de participation des parents.

- La seconde méthode de stimulation par voie rétronasale aurait pu se baser sur un dispositif utilisé par Lim & Padmanabhan (2013). Leur dispositif repose sur la présentation d'odorant dans un flacon recouvert d'un film plastique, dans lequel a préalablement été placée une paille. Celle-ci est fixée de sorte à être positionnée audessus de la surface du liquide. Ce dispositif permet aux participants de percevoir les odeurs de la phase vapeur sans « goûter » le stimulus. Néanmoins, ce mode de présentation nécessite une aspiration *via* la paille. Il n'était pas possible de demander à des nourrissons de ces âges d'aspirer *via* la paille.

#### 4.2. Limites des mesures d'appréciation

Deux limites peuvent être soulevées ici.

Tout d'abord, les résultats de cette étude reposent sur l'appréciation alimentaire des enfants rapportées par leurs parents. Cette méthode d'évaluation n'est pas aussi fiable qu'une méthode d'analyse sensorielle classique impliquant une dégustation des aliments. Or, vu le nombre d'enfants et le nombre important d'aliments du questionnaire et l'investissement déjà demandé aux parents, il n'était pas envisageable de réaliser des séances d'analyses sensorielles aux différents âges. Les parents n'étant pas en « aveugle » pour évaluer l'appréciation des aliments, il est possible qu'ils aient surestimé les appréciations en raison d'un biais de désirabilité sociale. Toutefois, l'acceptation élevée des aliments observée dans notre étude concorde avec les résultats de la littérature (voir article 3). L'échelle utilisée pour

la notation de l'appréciation alimentaire des enfants était une échelle en 4 points. Etant donné l'investissement demandé pour remplir les cahiers alimentaires, nous avons voulu simplifier la tâche des parents en leur proposant une échelle facile à comprendre et à utiliser. Cette échelle a été conservée pour les questionnaires donnés à partir des 15 mois de l'enfant, afin de ne pas perturber les parents en modifiant l'outil. Il est possible que les résultats de l'appréciation auraient été plus nuancés si nous avions utilisé une échelle comportant un plus grand nombre de points.

Enfin, l'absence de liens entre réponses aux odeurs agréables et appréciation des aliments porteurs de ces odeurs repose sur la catégorie des fruits. Comme noté ci-dessus, les fruits sont fortement appréciés, et ceci pourrait être dû à leur sucrosité. En effet, il a été montré que la sucrosité de certains aliments, notamment des fruits, était une dimension importante prédisant l'appréciation des enfants (Birch, 1979). Ce résultat a également été retrouvé dans le cadre de la cohorte OPALINE (Schwartz *et al.*, 2011a). Il aurait été intéressant de considérer d'autres catégories d'aliments appréciés, ne présentant pas de composante sucrée, comme la viande par exemple (Nicklaus *et al.*, 2005b).

### **Chapitre 7**

Perspectives, conclusions et implications

### 1. Mieux comprendre l'évolution des réponses olfactives

Une odeur peut être perçue par un adulte comme étant agréable ou désagréable. De nombreuses études se sont intéressées à la perception hédonique des odeurs chez l'adulte ainsi qu'au traitement de l'information des odeurs selon leur valence hédonique. Il a notamment été montré que les odeurs plaisantes et déplaisantes induisent des patterns d'activation neuronales distincts (*e.g.* Bensafi *et al.*, 2012, Royet *et al.*, 2003, Zelano *et al.*, 2007).

Peu d'études se sont intéressées à la perception hédonique des odeurs au cours de la prime enfance. Ce travail nous a permis de mettre en évidence qu'au cours des deux premières années de vie, les réponses des enfants sont relativement peu différenciées envers les odeurs agréables. En revanche, les enfants manifestent des réponses d'évitement envers des odeurs désagréables par rapport au contrôle. La littérature suggère qu'au-delà de l'âge de 3 ans, les enfants commencent à manifester des préférences pour les odeurs agréables (Rinck *et al.*, 2011; Schmidt & Beauchamp, 1988). Il serait intéressant de comprendre les processus neuronaux sous-jacents à la perception olfactive au cours des deux premières années de vie et de les comparer à ceux des enfants plus âgés. Des techniques d'imageries, tels que l'IRM fonctionnelle, permettraient d'étudier les patterns d'activations cérébrales liés à la perception d'odeurs. Ces techniques ont déjà permis de mettre en évidence des différences entre les patterns d'activations neuronales des enfants de 9 à 12 ans et ceux des adultes (Hummel *et al.*, 2012). Il semblerait que les structures cérébrales impliquées dans l'intégration cognitive des stimuli olfactifs soient davantage activées chez l'adulte que chez l'enfant.

L'appréciation des odeurs semble être apprise au fil des expériences et être concomitante avec l'acquisition des capacités verbales. Une étude récente suggère que le langage renforce l'appréciation des odeurs et que la période 3 à 5 ans est une période charnière dans le développement de l'appréciation des odeurs (Rinck *et al.*, 2011). Toutefois, le rôle du langage dans le développement de l'appréciation des odeurs reste encore à ce jour peu étudié.

Il serait intéressant d'observer les processus neuronaux chez les jeunes enfants (moins de 5 ans) comparés à des enfants avec des capacités verbales plus importantes. Comme il a déjà été montré que les capacités liées à la production du langage sont liées à la perception olfactive (Rinck *et al.*, 2011), il serait pertinent de comparer les processus neuronaux chez des enfants ayant des capacités verbales différentes. Pour ce faire, les capacités verbales pourraient être mesurées avec un test de fluence verbale. Ce test, largement utilisé en

psychologie cognitive, permet d'évaluer la mémoire sémantique et la disponibilité lexicale, notamment des concepts sensoriels. Ainsi, nous pourrions étudier le traitement de l'information olfactive chez l'enfant en lien avec ses capacités verbales.

# 2. Quel serait le rôle de l'olfaction dans l'appréciation alimentaire chez l'enfant pré-lecteur ?

#### 2.1. Contexte et objectifs

Le présent travail a porté sur le rôle des réponses olfactives dans la formation du comportement alimentaire au cours de la petite enfance. Nous avons mis en évidence des relations entre réponses olfactives et appréciation des aliments à flaveurs prononcées au moment de la transition d'aliments dits « bébés » à des aliments « adultes ». Toutefois, dans notre étude, tous les aliments étaient relativement bien acceptés. Chez l'enfant âgé de 5 ans, certaines catégories d'aliments, comme le poisson, ne sont pas appréciées à l'unanimité. Les causes de ces rejets alimentaires restent méconnues. Des facteurs biologiques, telle que la sensibilité sensorielle, pourraient avoir un rôle dans le rejet des aliments (voir chapitre 1 partie 3). Toutefois, peu de données sont disponibles sur l'impact de la sensibilité olfactive sur la consommation ou l'appréciation d'un aliment chez l'enfant pré-lecteur.

Par ailleurs, comme décrit dans le chapitre 1, partie 1.3, il existe des liens étroits entre langage et sensorialité (Rinck *et al.*, 2011). Cependant, aucune étude n'a, à ce jour, investigué le lien entre les performances olfactives et l'appréciation ou le rejet alimentaire, en relation avec les performances linguistiques.

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous avons conduit une étude préliminaire, à visée exploratoire, dans le but de définir une méthodologie permettant d'étudier les liens entre performances olfactives et appréciation/rejet alimentaire en relation avec les performances linguistiques chez l'enfant de 5 ans. Nous avons choisi de travailler avec des enfants prélecteurs car ils sont moins susceptibles d'être influencés par les recommandations nutritionnelles et sont plus centrés sur leur sensorialité. Dans cette étude, nous nous sommes

intéressés à l'appréciation et au rejet des poissons. En effet, le poisson fait partie du « hit parade » des aliments les moins appréciés (Hanse, 1994). Une étude récente de notre équipe (non publiée) a mis en évidence qu'environ 15 % des enfants de 5 ans n'aiment pas le poisson.

#### Nos objectifs étaient de :

- déterminer si la sensibilité et l'appréciation à la triméthylamine (odeur de poisson) ont un impact sur les préférences et la consommation de poissons. L'hypothèse était que la sensibilité à la triméthylamine influence l'appréciation de l'odeur de ce composé qui pourrait impacter l'appréciation des poissons.
- Evaluer comment les facteurs cognitifs (identification et compétences linguistiques) influent sur l'appréciation hédonique olfactive, elle-même susceptible de moduler l'appréciation des aliments. L'hypothèse était que les facteurs cognitifs impactent l'appréciation de l'odeur de triméthylamine qui pourrait impacter l'appréciation des poissons.

#### 2.2. Bilan des pré-tests

Cette étude exploratoire a été conduite auprès de 33 enfants de grande section de maternelle. Lors de ce pré-test, plusieurs tâches étaient proposées aux enfants : une mesure de l'état de faim, un test de seuil, un test de fluence verbale, un test d'identification spontanée et un test hédonique. Le test durait 20 minutes au total. Ces tâches sont détaillées en Annexe 2.

Les enfants de 5 ans ayant des capacités d'attention limitées, nous avons voulu réaliser un test avec une durée relativement courte. Dans cette optique, nous avons commencé le test par la tâche de seuil. Les résultats n'ont pas permis d'évaluer une valeur seuil. En effet, certains enfants détectaient les odeurs à des concentrations faibles mais pas à des concentrations plus fortes, d'autres détectaient les odeurs seulement à des concentrations intermédiaires. Bien que le test de seuil comprenait une tâche d'entraînement, le fait d'avoir débuter la séance par ce type de test a pu induire une incompréhension de la tâche de la part de l'enfant. En effet, présenter des odeurs d'aliment (sans la présence de l'aliment) dans des flacons peut être abstrait pour un enfant de 5 ans.

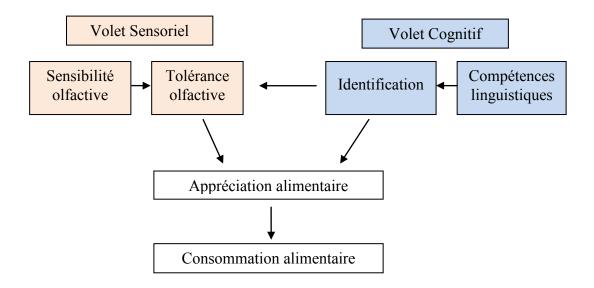
Ce test reposait sur une procédure à choix forcé impliquant 4 flacons (4-AFC). Ce type de procédure implique la mémoire de travail. Les enfants de cet âge ayant des capacités mnésiques limitées, il est possible qu'ils n'aient pas mémorisé le flacon contenant l'odeur résultant en des réponses incohérentes.

Afin de tenir compte des capacités d'attention limitée de l'enfant et de leur difficulté à donner des réponses cohérentes lors d'un test de seuil, il serait intéressant d'adapter le test en combinant le test de seuil et le test hédonique. Dix concentrations de la molécule cible pourraient être présentées à l'enfant en alternant avec des stimuli neutres. Pour chaque flacon présenté, il serait demandé à l'enfant de noter l'odeur avec une échelle allant de « Je ne sens rien », « ça sent trop mauvais », « ça sent mauvais », « Je ne peux pas dire si ça sent bon ou mauvais », « ça sent bon », « ça sent trop bon ». Ce type d'échelle nous permettrait d'une part, de déterminer la valeur seuil à laquelle l'odorant est perçu et d'autre part, d'évaluer la tolérance de l'enfant vis-à-vis de l'odorant.

Nous avons évalué dans cette étude, la fluence verbale générale et olfactive des enfants, ainsi que leurs réponses hédoniques vis-à-vis d'odeurs agréables et d'odeurs désagréables (voir Annexe 2). Les résultats de ces tests ont permis de mettre en évidence un lien marginal entre la fluence verbale olfactive des enfants et leurs réponses hédoniques envers les odeurs désagréables (tau=0,19, p=0,08)<sup>10</sup>, mais pas envers les odeurs agréables (tau=-0.05, p=0.64). En revanche, aucun lien n'a été mis en évidence entre la fluence verbale générale des enfants et leurs réponses hédoniques [tau=-0,11, p=0.80 pour les odeurs agréables et tau=-0,18, p=0,91 pour les odeurs désagréables]. Ces résultats préliminaires suggèrent que plus la connaissance verbale olfactive de l'enfant est étendue, plus l'enfant sera tolérant envers les odeurs désagréables. Il aurait été intéressant de pouvoir tester si les enfants ayant des connaissances verbales olfactives élevées ont également une meilleure capacité d'identification des odeurs. Dans cette étude exploratoire, nous n'avons utilisé qu'un test d'identification spontanée des odeurs. Ce test s'est révélé relativement difficile pour les jeunes enfants : seulement 30% des enfants ont généré au moins une identification correcte sur les 6 demandées. Il serait judicieux de coupler le test d'identification spontanée avec un test d'identification forcée (4-AFC).

Des corrélations de Kendall (tests unilatéraux) ont été calculées entre les scores de fluence verbale et les scores hédoniques moyens pour les 3 odeurs désagréables (et celle des 3 odeurs agréables).

Il serait intéressant de poursuivre cette étude en considérant le test combinant test de seuil et test hédonique décrit ci-dessus, tout en incluant le test de fluence verbale et le test d'identification forcée. Nous pourrions ainsi tester le poids de chacun des volets cognitifs et des volets sensoriels sur l'appréciation et la consommation alimentaire par un modèle d'équations structurelles (Figure 17).



**Figure 17.** Modèle permettant de tester le poids respectif des volets cognitifs et sensoriels sur l'appréciation et la consommation alimentaire.

# 3. « Vaincre » la néophobie alimentaire par l'exposition olfactive

Dovey *et al.*, (2008) pointent que le rejet de tout nouvel aliment serait basé sur la vision. Il a été suggéré que la familiarité contribue à la diminution de la néophobie alimentaire (Cooke, 2007). Or, la simple exposition visuelle à un aliment ne suffit pas pour augmenter son appréciation en bouche, il est nécessaire de goûter l'aliment (Birch *et al.*, 1987). En revanche, lorsque la vision de l'aliment est rattachée à un contexte affectif, l'appréciation de l'aliment s'accroît. En effet, une étude a récemment mis en évidence que le fait de lire un livre concernant un légume peu apprécié avec des enfants de 18 à 24 mois, chaque soir pendant 2 semaines, permet d'augmenter l'appréciation de ce légume (Houston-Price *et al.*, 2012).

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 5, partie 3, la réactivité olfactive est liée à la néophobie alimentaire. Nous pouvons nous demander si une exposition préalable aux odeurs

dans un contexte affectif positif pourrait augmenter l'appréciation de l'aliment correspondant. Nous pouvons supposer que la lecture couplée à la familiarisation avec l'odeur pourrait consolider l'apprentissage du nom d'une odeur et ainsi familiariser l'enfant à cette odeur, ce qui pourrait impacter *in fine* l'appréciation de l'aliment correspondant. Cette piste combinant ces deux types d'apprentissage dans un contexte socio-affectif positif pourrait être proposée aux parents. Néanmoins, il conviendrait de conduire une étude pour vérifier l'efficacité plus grande d'une telle approche par rapport à celle proposée par Houston-Price et ses collaborateurs.

## 4. Quels sont les déterminants de la formation des préférences alimentaires ?

Ce travail, s'inscrivant dans le cadre de l'étude OPALINE, a permis d'étudier de façon isolée le rôle des odeurs dans la formation des préférences alimentaires.

L'étude OPALINE avait pour ambition d'étudier quels déterminants peuvent intervenir dans la formation des préférences alimentaires et quels sont leurs poids respectifs. Pour répondre à cette question, un modèle statistique global a été réalisé en prenant en compte les expositions sensorielles prénatales et néonatales, les réponses sensorielles (olfactive et gustative), la variété d'aliments introduits lors de la diversification alimentaire et les pratiques parentales. Un modèle d'équations structurelles a été réalisé. Plus précisément, nous nous sommes basés sur modèle de type « path analysis » qui est un modèle basé sur des variables observées et non des variables latentes. L'utilisation d'un tel modèle a permis de prendre en compte l'ensemble des déterminants, en tenant compte de la structure longitudinale des données, afin de décrire la formation des préférences alimentaires.

Les premiers résultats, portant sur les déterminants influençant l'appréciation des légumes, ont été présentés à un colloque (voir Annexe 3). Les résultats ont révélé que l'appréciation des légumes au moment de la diversification alimentaire est corrélée avec la variété de légumes introduits au début de la diversification. En revanche, aucune relation n'a été mise en évidence entre l'appréciation des légumes lors de la diversification et la durée d'allaitement ou encore la variété de légumes consommés par la mère durant la grossesse et l'allaitement. A 1 an, l'appréciation des légumes est corrélée positivement avec l'acceptation de la saveur amère et des odeurs de légumes verts et de légumes soufrés. A 2 ans,

l'appréciation des légumes est corrélée positivement avec la fréquence d'exposition et négativement avec le style éducatif « permissif » des parents.

Les résultats de ce modèle mettent ainsi en avant le rôle de la composante olfactive dans l'appréciation des légumes à 1 an. Les résultats diffèrent de ceux issus de ce présent travail. En effet, nous n'avons pas observé de tels liens à 1 an, mais uniquement un lien marginal entre les réponses envers l'odeur de légumes verts et l'appréciation des aliments correspondant à 22 mois. La différence de résultats peut s'expliquer par le fait que le modèle statistique prend en compte l'acceptation des nouveaux aliments à la diversification et l'acceptation de la saveur amère.

#### 5. Conclusions et implications

Au niveau méthodologique, ce travail de doctorat a permis de valider une méthode d'étude des réponses olfactives chez le nourrisson de moins de 2 ans.

Au niveau scientifique, ce travail apporte des éléments nouveaux dans la compréhension du développement des réponses olfactives au cours des deux premières années de vie et leurs implications sur le comportement alimentaire en formation chez le nourrisson.

Au niveau pratique, nos résultats permettent d'apporter des éléments pour enrichir le discours sur l'alimentation des nourrissons. En effet, nos travaux ont montré que les expositions aromatiques précoces ont une influence positive sur les réponses olfactives vis-àvis d'odeurs désagréables, telles que les odeurs de légumes verts, au début de la diversification alimentaire, période où les aliments sont facilement acceptés. Il serait judicieux de recommander aux mères de consommer elle-même durant les périodes de grossesse et d'allaitement, les aliments « difficiles » comme les légumes. Durant ces périodes, les mères sont certainement plus réceptives aux conseils et acceptent plus facilement un changement de leurs habitudes. Ceci permettrait au fœtus et au nourrisson de se familiariser avec l'odeur de ces aliments. De plus, en faisant l'hypothèse que la mère conserverait les habitudes acquises pendant sa grossesse et la période d'allaitement maternel, ceci lui permettrait ultérieurement de jouer un rôle de modèle vis-à-vis de son enfant. L'introduction précoce des aliments, tels que les légumes verts, pourrait faciliter leur acceptation et ainsi permettre de promouvoir un comportement alimentaire équilibré. Nos résultats ont permis de mettre en évidence un rôle d'alarme du système olfactif contribuant à une méfiance envers les aliments à partir de 12

mois. La néophobie peut être dépassée par des présentations répétées d'aliments. Une « éducation sensorielle », notamment aux odeurs, pourrait permettre d'accroître la familiarité pour cette odeur et *in fine* son acceptation et celle des aliments porteurs de cette odeur.

Références	bib]	liograi	ohia	iues
itelet enees				ucs

#### A

- Ahern, S.M., Caton, S.J., Bouhlal, S., Hausner, H., Olsen, A., Nicklaus, S., Møller, P., Hetherington, M.M., (2013). Eating a Rainbow. Introducing vegetables in the first years of life in 3 European countries. *Appetite*. 71, 48-56.
- Albrecht, J., et al., (2009). Olfactory detection thresholds and pleasantness of a food-related and a non-food odour in hunger and satiety. *Rhinology*. 47, 160-165.
- Alexy, U., Sichert-Hellert, W., Kersting, M., (2002). Fifteen-year time trends in energy and macronutrient intake in German children and adolescents: results of the DONALD study. *Bristish Journal of Nutrition*. 87, 595-604.
- American Academy of Pediatrics, C.o.N., (1989). Hypoallergenic Infant Formulas. *Pediatrics*. 83, 1068-1069.
- Ayabe-Kanamura, S., Saito, S., Distel, H., Martinez-Gomez, M., Hudson, R., (1998). Differences and similarities in the perception of everyday odors a Japanese-German cross-cultural study. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 855, 694-700.

#### B

- Balogh, R.D. & Porter, R.H., (1986). Olfactory preferences resulting from mere exposure in human neonates. *Infant Behavior and Development.* 9, 395-401.
- Barends, C., De Graaf, C., de Vries, J.. The effects of weaning with either fruits or vegetables at the age of 4 6 months on vegetable and fruit acceptance at 12 and 23 months. In: 10th Pangborn Sensory Science Symposium. Rio de Janeiro, Brazil, 2013.
- Barkat, S., Poncelet, J., Landis, B.N., Rouby, C., Bensafi, M., (2008). Improved smell pleasantness after odor-taste associative learning in humans. *Neuroscience Letters*. 434, 108-112.
- Bell, K.I. & Tepper, B.J., (2006). Short-term vegetable intake by young children classified by 6-n-propylthoiuracil bitter-taste phenotype. *American Journal of Clinical Nutrition*. 84, 245-251.
- Bensafi, M., Rinck, F., Schaal, B., Rouby, C., (2007). Verbal Cues Modulate Hedonic Perception of Odors in 5-Year-Old Children as well as in Adults. *Chem. Senses.* 32, 855-862.
- Bensafi, M., Iannilli, E., Poncelet, J., Seo, H.-S., Gerber, J., Rouby, C., Hummel, T., (2012). Dissociated representations of pleasant and unpleasant olfacto-trigeminal mixtures: an FMRI study. *Plos one.* 7, e38358.
- Bingham, P.M., (2003). Odorants in breast milk. Archives of pediatrics & adolescent medicine. 157, 1031.

- Birch, L.L., (1979). Dimensions of preschool children's food preferences. *Journal of Nutrition Education*. 11, 77-80.
- Birch, L.L., McPhee, L., Shoba, B.C., Pirok, E., Steinberg, L., (1987). What kind of exposure reduces children's food neophobia? Looking vs. Tasting. *Appetite*. 9, 171-178.
- Birch, L.L. & Fisher, J.O., (1998). Development of eating behaviors among children and adolescents. *Pediatrics*. 101, 539-549.
- Birch, L.L., (1999). Development of food preferences. Annual Review of Nutrition. 19, 41-62.
- Blossfeld, I., Collins, A., Boland, S., Baixauli, R., Kiely, M., Delahunty, C., (2007). Relationships between acceptance of sour taste and fruit intakes in 18-month-old infants. *British Journal of Nutrition*. 98, 1084-1091.
- Bonet, M., L'Helias, L.F., Blondel, B., (2008). Allaitement maternel exclusif et allaitement partiel en maternité : la situation en France en 2003. *Archives de Pédiatrie*. 15, 1407-1415.
- Bonfils, P., Avan, P., Faulcon, P., Malinvaud, D., (2005). Distorted odorant perception: Analysis of a series of 56 patients with parosmia. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 131, 107-112.
- Bonneau, M., et al., (2000). An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: I. Presentation of the programme and measurement of boar taint compounds with different analytical procedures. *Meat Science*. 54, 251-259.
- Briefel, R.R., Reidy, K., Karwe, V., Jankowski, L., Hendricks, K., (2004). Toddlers' transition to table foods: Impact on nutrient intakes and food patterns. *Journal of the American Dietetic Association*. 104, S38-S44.
- Briend, A., (2009). [Complementary feeding: current recommendations]. *Médecine Tropicale* (*Mars*). 69, 298-302.
- Buettner, A., (2007). A selective and sensitive approach to characterize odour-active and volatile constituents in small-scale human milk samples. *Flavour and fragrance journal.* 22, 465-473.
- Bunce, E. & Gibson, E.L., (2012). Sniffing, eating and disgust in food neophobic children. *Appetite*. 59, 622.

- Cabanac, M., (1971). Physiological role of pleasure. A stimulus can feel pleasant or unpleasant depending upon its usefull as determined by internal signals. *Science*. 173, 1103-1107.
- Carruth, B.R., Ziegler, P.J., Gordon, A., Barr, S.I., (2004). Prevalence of picky eaters among infants and toddlers and their caregivers' decisions about offering a new food. *Journal of the American Dietetic Association*. 104, S57-S64.

- Cashdan, E., (1994). A sensitive period for learning about food. *Human Nature*. 5, 279-291.
- Caton, S.J., Ahern, S.M., Hetherington, M.M., (2011). Vegetables by stealth. An exploratory study investigating the introduction of vegetables in the weaning period. *Appetite*. 57, 816-825.
- Cernoch, J.-N. & Porter, R.H., (1985). Recognition of maternal axillary odors by infants. *Child development.* 56, 1593-1598.
- Contreras, C.M., Gutiérrez-García, A.G., Mendoza-López, R., Rodríguez-Landa, J.F., Bernal-Morales, B., Díaz-Marte, C., (2013). Amniotic fluid elicits appetitive responses in human newborns: Fatty acids and appetitive responses. *Developmental Psychobiology*. 55, 221-231.
- Cooke, L., Wardle, J., Gibson, E.L., (2003). Relationship between parental report of food neophobia and everyday food consumption in 2-6-year-old children. *Appetite*. 41, 205-206.
- Cooke, L., (2007). The importance of exposure for healthy eating in childhood: a review. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 20, 294-301.
- Cooke, L.J. & Wardle, J., (2005). Age and gender differences in children's food preferences. *British Journal of Nutrition*. 93, 741-6.
- Coulthard, H. & Blissett, J., (2009). Fruit and vegetable consumption in children and their mothers: moderating effects of child sensory sensitivity. *Appetite*. 52, 410-415.

#### D

- Davis, L.B. & Porter, R.H., (1991). Persistent effects of early odor exposure on human neonates. *Chemical Senses.* 16, 169-174.
- de Wijk, R.A., Polet, I.A., Engelen, L., van Doorn, R.M., Prinz, J.F., (2004). Amount of ingested custard dessert as affected by its color, odor, and texture. *Physiology & Behavior*. 82, 397-403.
- Delaunay- El Allam, M., Soussignan, R., Patris, B., Marlier, L., Schaal, B., (2010). Long-lasting memory for an odor acquired at the mother's breast. *Developmental Science*. 13, 849-863.
- Delaunay-El Allam, M., (2007). L'expérience sensorielle du nouveau-né et sa rétention à long terme: une analyse expérimentale de l'apprentissage des odeurs chez l'enfant humain. Thèse de Doctorat. Université de Bourgogne, Dijon.
- Delplanque, S., Grandjean, D., Chrea, C., Aymard, L., Cayeux, I., Le Calve, B., Velazco, M.I., Scherer, K.R., Sander, D., (2008). Emotional Processing of Odors: Evidence for a Nonlinear Relation between Pleasantness and Familiarity Evaluations. *Chemical Senses*. 33, 469-479.

- Dennison, B.A., Rockwell, H.L., Baker, S.L., (1998). Fruit and Vegetable Intake in Young Children. *Journal of American College of Nutrition*. 17, 371-378.
- Doucet, S., Soussignan, R., Sagot, P., Schaal, B., (2007). The "smellscape" of mother's breast: Effects of odor masking and selective unmasking on neonatal arousal, oral, and visual responses. *Developmental Psychobiology*. 49, 129-138.
- Dovey, T.M., Staples, P.A., Gibson, E.L., Halford, J.C.G., (2008). Food neophobia and 'picky/fussy' eating in children: A review. *Appetite*. 50, 181-193.
- Drewnowski, A., (1997). Taste preference and food intake. *Annual Review of Nutrition*. 17, 237-253.
- Durand, K., Baudon, G., Freydefont, L., Schaal, B., (2008). Odorization of a novel object can influence infant's exploratory behavior in unexpected ways. *Infant Behavior & Development*. 31, 629-636.

#### $\mathbf{E}$

- Ebbeling, C.B., Pawlak, D.B., Ludwig, D.S., (2002). Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. *The Lancet*. 360, 473-482.
- Engel, E., Martin, N., Issanchou, S., (2006). Sensitivity to allyl isothiocyanate, dimethyl trisulfide, sinigrin, and cooked cauliflower consumption. *Appetite*. 46, 263-269.
- Engen, T., Lipsitt, L.P., Kaye, H., (1963). Olfactory responses and adaptation in the human neonate. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 56, 73-77.
- Engen, T., (1974). Method and theory in the study of odor preferences. In: Human responses to environmental odors. A. Turk, J.W. Johnston, D.G. Moulton (Ed.), eds. Academic Press, New York, pp. 122-141.
- Epple, G. & Herz, R.S., (1999). Ambient Odors Associated to Failure Influence Cognitive Performance in Children. *Developmental Psychobiology*. 103-107.

#### F

- Faas, A.E., Spontón, E.D., Moya, P.R., Molina, J.C., (2000). Differential responsiveness to alcohol odor in human neonates: Efects of maternal consumption during gestation. *Alcohol.* 22, 7-17.
- Farrow, C.V. & Coulthard, H., (2012). Relationships between sensory sensitivity, anxiety and selective eating in children. *Appetite*. 58, 842-846.

- Ferreira, V., (2012). Revisiting psychophysical work on the quantitative and qualitative odour properties of simple odour mixtures: a flavour chemistry view. Part 2: qualitative aspects. A review. *Flavour and Fragrance Journal*. 27, 201-215.
- Fischler, C. & Chiva, M., (1985). Food likes, dislikes and some of their correlates in a sample of French children and young adults. In: Measurement and determinants of food habits and food preferences. EURO-NUT, Vol. report7, J.M. Diehl, C. Leitzmann, eds. Department of Human Nutrition, Agricultural University, Wageningen, pp. 137-156.
- Font-i-Furnols, M. (2012). Consumer studies on sensory acceptability of boar taint: A review. *Meat Science*, *92*(4), 319-329.
- Forestell, C.A. & Mennella, J.A., (2007). Early determinants of fruit and vegetable acceptance. *Pediatrics*. 120, 1247-54.

#### G

- Galloway, A.T., Lee, Y., Birch, L.L., (2003). Predictors and consequences of food neophobia and pickiness in young girls. *Journal of the American Dietetic Association*. 103, 692-698.
- Galloway, A.T., Fiorito, L., Lee, Y., Birch, L.L., (2005). Parental pressure, dietary patterns, and weight status among girls who are "picky eaters". *Journal of the American Dietetic Association*. 105, 541-548.
- Gerrish, C.J. & Mennella, J.A., (2001). Flavor variety enhances food acceptance in formula-fed infants. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73, 1080-1085.
- Gibson, E.L. & Wardle, J., (2003). Energy density predicts preferences for fruit and vegetables in 4-year-old children. *Appetite*. 41, 97-98.

#### $\mathbf{H}$

- Haller, R., Rummel, C., Henneberg, S., Pollmer, U., Köster, E.P., (1999). The influence of early experience with vanillin on food preference later in life. *Chemical Senses*. 24, 465-467.
- Hanse, L., (1994). La néophobie alimentaire chez l'enfant. In: UFR des Sciences Psychologiques et des Sciences de l'Education. Thèse de Doctorat. Université Paris X Nanterre, Paris.
- Hauser, G.J., Chitayat, D., Berbs, L., Braver, D., Mulbauer, B., (1985). Peculiar odors in newborns and maternal pre-natal ingestion of spicy foods. *European Journal of Pediatrics*. 144.
- Hausner, H., Bredie, W.L.P., Mølgaard, C., Petersen, M.A., Møller, P., (2008). Differential transfer of dietary flavour compounds into human breast milk. *Physiology & Behavior*. 95, 118-124.

- Hausner, H., Philipsen, M., Skov, T.H., Petersen, M.A., Bredie, W.L.P., (2009). Characterization of the Volatile Composition and Variations Between Infant Formulas and Mother's Milk. *Chemosensory Perception.* 2, 79-93.
- Hausner, H., Nicklaus, S., Issanchou, S., Mølgaard, C., Møller, P., (2010). Breastfeeding facilitates acceptance of a novel dietary flavour compound. *Clinical Nutrition*. 29, 141-148.
- Hepper, P.G., (1995). Human fetal "olfactory" learning. *International journal prenatal and perinatal psychology and medecine*. 7, 147-151.
- Hepper, P.G., Wells, D.L., Dornan, J.C., Lynch, C., (2013). Long-term flavor recognition in humans with prenatal garlic experience. *Developmental Psychobiology*. 55, 568-74.
- Herz, R.S., (2003). The effect of verbal context in olfactory perception. *Journal of Experimental Psychology: General.* 132, 595-606.
- Holsten, J.E., Deatrick, J.A., Kumanyika, S., Pinto-Martin, J., Compher, C.W., (2012). Children's food choice process in the home environment. A qualitative descriptive study. *Appetite*. 58, 64-73.
- Houston-Price, C., Owen, L., Kennedy, O. Picture books increase toddlers' liking and consumption of disliked vegetables. In: Workshop OPALINE: understanding the early development of food preferences and eating behaviour in children. Dijon, France, 2012.
- Howard, A.J., Mallan, K.M., Byrne, R., Magarey, A., Daniels, L.A., (2012). Toddlers' food preferences. The impact of novel food exposure, maternal preferences and food neophobia. *Appetite*. 59, 818-825.
- Hummel, T., Bensafi, M., Nikolaus, J., Knecht, M., Laing, D.G., Schaal, B., (2007). Olfactory function in children assessed with psychophysical and electrophysiological techniques. *Behavioural Brain Research*. 180, 133-138.
- Hummel, T., Hummel, C., Iannilli, E., Baur, A., Gerber, J., Chopra, A., (2012). Olfactory Processing in Children and Young Adults. *Chemosensory Perception.* 5, 128-137.
- Humphrey, T., (1940). The development of the olfactory and the accessory olfactory formations in human embryos and fetuses. *The Journal of Comparative Neurology*. 73, 431-468.

#### .

- Jaeger, S.R., *et al.*, (2012). Investigation of the impact of sensitivity to cis-3-hexen-1-ol (green/grassy) on food acceptability and selection. *Food Quality and Preference*. 24, 230-242.
- Jiang, T., Schaal, B., Boulanger, V., Kontar, F., Soussignan, R., (2013). Children's reward responses to picture- and odor-cued food stimuli. A developmental analysis between 6 and 11 years. *Appetite*. 67, 88-98.

Jinks, A. & Laing, D.G., (2001). The analysis of odor mixtures by humans: evidence for a configurational process. *Physiology & Behavior*. 72, 51-63.

#### K-L

- Kirsch, F., Beauchamp, J., Buettner, A., (2012). Time-dependent aroma changes in breast milk after oral intake of a pharmacological preparation containing 1,8-cineole. *Clinical Nutrition*. 31, 682-692.
- Laing, D.G., (1991). Perception of complex smells. *Encyclopedia of Human Biology*. 5, 759-767.
- Laing, D.G., (1994). Perceptual odour interactions and objective mixture analysis. *Food Quality and Preference*. 5, 75-80.
- Lange, C., Visalli, M., Jacob, S., Chabanet, C., Schlich, P., Nicklaus, S., (2013). Maternal feeding practices during the first year and their impact on infants' acceptance of complementary food. *Food Quality and Preference*. 29, 89-98.
- Le Berre, E., Atanasova, B., Langlois, D., Etiévant, P., Thomas-Danguin, T., (2007). Impact of ethanol on the perception of wine odorant mixtures. *Food Quality and Preference*. 18, 901-908.
- Le Heuzey, M.F., Turberg-Romain, C., Lelièvre, B., (2007). Comportement alimentaire des nourrissons et jeunes enfants de 0 a 36 mois : comparaison des habitudes des mères. Comparison of feeding behaviour in mothers of infants and young children from 0 to 36 months old. *Archives de Pédiatrie*. 14, 1379-1388.
- Lecanuet, J.-P. & Schaal, B., (1996). Fetal sensory competencies. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 68, 1-23.
- Liem, D.G. & Mennella, J.A., (2002). Sweet and sour preferences during childhood: role of early experiences. *Developmental Psychobiology*. 41, 388-395.
- Liem, D.G., Bogers, R.P., Dagnelie, P.C., de Graaf, C., (2006). Fruit consumption of boys (8-11 years) is related to preferences for sour taste. *Appetite*. 46, 93-96.
- Lim, J. & Padmanabhan, A., (2013). Retronasal Olfaction in Vegetable Liking and Disliking. *Chemical Senses*. 38, 45-55.
- Lunde, K., Skuterud, E., Nilsen, A., Egelandsdal, B., (2009). A new method for differentiating the androstenone sensitivity among consumers. *Food Quality and Preference*. 20, 304-311.

#### M

- Maier, A., Chabanet, C., Schaal, B., Issanchou, S., Leathwood, P., (2007a). Effects of repeated exposure on acceptance of initially disliked vegetables in 7-month old infants. *Food Quality and Preference*. 18, 1023-1032.
- Maier, A., Chabanet, C., Schaal, B., Leathwood, P., Issanchou, S., (2007b). Food-related sensory experience from birth through weaning: Contrasted patterns in two nearby European regions. *Appetite*. 49, 429-440.
- Maier, A.S., Chabanet, C., Schaal, B., Leathwood, P.D., Issanchou, S.N., (2008). Breastfeeding and experience with variety early in weaning increase infants' acceptance of new foods for up to two months. *Clinical Nutrition*. 27, 849-857.
- Marlier, L. & Schaal, B., (1997). Familiarité et discrimination olfactive chez le nouveau-né : Influence différentielle du mode d'alimentation. In: L'odorat chez l'enfant : perspectives croisées. Enfance, Vol. 1, B. Schaal (Ed.), eds. PUF, Vendôme, pp. 47-61.
- Marlier, L., Schaal, B., Soussignan, R., (1997). Orientation responses to biological odours in the human newborn. Initial pattern and postnatal plasticity. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris, Sciences de la vie.* 320, 999-1005.
- Marlier, L., Schaal, B., Soussignan, R., (1998a). Neonatal responsiveness to the odor of amniotic fluids: a test of perinatal chemosensory continuity. *Child Development*. 69, 611-623.
- Marlier, L., Schaal, B., Soussignan, R., (1998b). Bottle-fed neonates prefer an odor experienced in utero to an odor experienced postnatally in the feeding context. *Developmental Psychobiology*. 33, 133-145.
- Marlier, L., Schaal, B., Gaugler, C., Messer, J., (2001). Olfaction in premature human newborns: detection and discrimination abilities two months before gestational term. In: Chemical signals in vertebrates 9. A. Marchlewska-Koj, J.J. Lepri, D. Müller-Schwarze (Ed.), eds. Kluwer Academic, New-York, pp. 205-209.
- Marlier, L. & Schaal, B., (2005). Human newborns prefer human milk: Conspecific milk odor is attractive without postnatal exposure. *Child Development*. 76, 155-168.
- Marlier, L., Gaugler, C., Astruc, D., Messer, J., (2007). La sensibilité olfactive du nouveau-né prématuré. *Archives de Pédiatrie*. 14, 45-53.
- Massolt, E.T., van Haard, P.M., Rehfeld, J.F., Posthuma, E.F., van der Veer, E., Schweitzer, D.H., (2010). Appetite suppression through smelling of dark chocolate correlates with changes in ghrelin in young women. *Regulatory Peptides*. 161, 81-86.
- Mattes, R.D., (1997). Physiologic Responses to Sensory Stimulation by Food: Nutritional Implications. *Journal of the American Dietetic Association*. 97, 406-413.

- McDaniel, M.R., (1980). Off-flavors of human milk. In: The analysis and control of less desirable flavors in food and beverages. G. Charalambous (Ed.), eds. Academic Press, New York, pp. 267-291.
- Mela, D.J., (2000). Review. Why do we like what we like? *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81, 10-16.
- Meier-Dinkel, L., Trautmann, J., Frieden, L., Tholen, E., Knorr, C., Sharifi, A.R., Bücking, M., Wicke, M., Mörlein, D., (2012). Consumer perception of boar meat as affected by labelling information, malodorous compounds and sensitivity to androstenone. *Meat Science*. in press.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (1991a). Maternal diet alters the sensory qualities of human milk and the nursling's behavior. *Pediatrics*. 88, 737-744.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (1991b). The transfer of alcohol to human milk. Effects on flavor and the infant's behavior. *The New England Journal of Medicine*. 325, 981-985.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (1993a). The effects of repeated exposure to garlic-flavored milk on the nursling's behavior. *Pediatrics Research*. 34, 805-808.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (1993b). Beer, breast-feeding, and folklore. *Developmental Psychobiology*. 26, 459-466.
- Mennella, J.A., (1995). Mother's milk: a medium for early flavor experiences. *Journal of Human Lactation*. 11, 39-45.
- Mennella, J.A., Johnson, A., Beauchamp, G.K., (1995). Garlic ingestion by pregnant women alters the odor of amniotic fluid. *Chemical Senses*. 20, 207-209.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (1996). The human infants' responses to vanilla flavors in human milk and formula. *Infant Behavior & Development*. 19, 13-19.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (1998a). Smoking and the Flavor of Breast Milk. *The New England Journal of Medicine*. 339, 1559-1560.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (1998b). Infant's exploration of scented toys: effect of prior experiences. *Chemical Senses*. 23, 11-17.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (1999). Experience with a flavor in mother's milk modifies the infant's acceptance of flavored cereal. *Developmental Psychobiology*. 35, 197-203.
- Mennella, J.A., Jagnow, C.P., Beauchamp, G.K., (2001). Prenatal and postnatal flavor learning by human infants. *Pediatrics*. 107, e88.
- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (2002). Flavor experiences during formula feeding are related to preferences during childhood. *Early Human Development*. 68, 71-82.

- Mennella, J.A. & Beauchamp, G.K., (2005). Understanding the origin of flavor preferences. *Chemical Senses*. 30, I242-i243.
- Mennella, J.A., Kennedy, J.M., Beauchamp, G.K., (2006). Vegetable acceptance by infants: Effects of formula flavors. *Early Human Development*. 82, 463-468.
- Mennella, J.A., Nicklaus, S., Jagolino, A.L., Yourshaw, L.M., (2008). Variety is the spice of life: Strategies for promoting fruit and vegetable acceptance during infancy. *Physiology & Behavior*. 94, 29-38.
- Mennella, J.A., Lukasewycz, L.D., Castor, S.M., Beauchamp, G.K., (2011). The timing and duration of a sensitive period in human flavor learning: a randomized trial. *American Journal of Clinical Nutrition*. 93, 1019-1024.
- Meredith, M., (2001). Human vomeronasal organ function: a critical review of best and worst cases. *Chemical Senses*. 26, 433-445.
- Monnery-Patris, S., Vinter, A., Issanchou, S. Relationship between odour reactivity, food behaviour and temperament in infants: development of a procedure. In: XVI ECRO Congress. Dijon, France, 2004.
- Monnery-Patris, S., Rouby, C., Nicklaus, S., Issanchou, S., (2009). Development of olfactory ability in children: sensitivity and identification. *Developmental Psychobiology*. 51, 268-276.

#### N

- Nicklaus, S. & Monnery-Patris, S., (2003). Poids de la prime enfance dans la formation des préférences alimentaires: présentation des méthodes d'étude et enjeu de l'approche écologique. *Psychologie Française*. 48, 23-38.
- Nicklaus, S., Boggio, V., Chabanet, C., Issanchou, S., (2005a). A prospective study of food variety seeking in childhood, adolescence and early adult life. *Appetite*. 44, 289-297.
- Nicklaus, S., Boggio, V., Issanchou, S., (2005b). Food choices at lunch during the third year of life: high selection of animal and starchy foods but avoidance of vegetables. *Acta Pædiatrica*. 94, 943-951.
- Nicklaus, S., Chabanet, C., Boggio, V., Issanchou, S., (2005c). Food choices at lunch during the third year of life: increase in energy intake but decrease in variety. *Acta Pædiatrica*. 94, 1023-1029.
- Nicklaus, S. & Issanchou, S., (2007). Children and food choice. In: Understanding consumers of food products. L. Frewer, H. van Trijp (Ed.), eds. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp. 329-358.
- Nicklaus, S., (2011). Children's acceptance of new foods at weaning. Role of practices of weaning and of food sensory properties. *Appetite*. 57, 812-815.

#### **O** - **P**

- Oster, H., Rosenstein, D. Analyzing facial movement in infants. (non publié)
- Pangborn, R.M., Witherly, S.A., Jones, F., (1979). Parotid and whole-mouth secretion in response to viewing, handling, and sniffing food. *Perception*. 8, 339-346.
- Peto, E., (1936). Contribution to development of smell feeling. *British Journal of Medical Psychology*. 15, 314-320.
- Pihet, S., Bullinger, A., Mellier, D., Schaal, B., (1997). Réponses comportementales aux odeurs chez le nouveau-né prématuré: Etude préliminaire. In: L'odorat chez l'enfant: perspectives croisées. Enfance, Vol. 1, B. Schaal (Ed.), eds. PUF, Vendôme, pp. 33-46.
- Pitrou, I., Shojaei, T., Wazana, A., Gilbert, F., Kovess-Masfety, V., (2010). Child overweight, associated psychopathology, and social functioning: a French school-based survey in 6- to 11-year-old children. *Obesity (Silver Spring, Md.)*. 18, 809-17.
- Plailly, J., Luangraj, N., Nicklaus, S., Issanchou, S., Royet, J.P., Sulmont-Rosse, C., (2011). Alliesthesia is greater for odors of fatty foods than of non-fat foods. *Appetite*. 57, 615-622.
- Poncelet, J., Rinck, F., Ziessel, A., Joussain, P., Thevenet, M., Rouby, C., Bensafi, M., (2010). Semantic Knowledge Influences Prewired Hedonic Responses to Odors. *Plos One*. 5 (11), e13878.
- Prescott, J., Kim, H., Kim, K.O., (2008). Cognitive Mediation of Hedonic Changes to Odors Following Exposure. *Chemosensory Perception.* 1, 2-8.
- Pritchard, J.A., (1966). Fetal swallowing and amniotic fluid volume. *Obstetrics and Gynecology*. 25, 606-610.

#### R

- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.
- Raimbault, C., Salida, E., Porter, R.H., (2006). The effect of the odour of mother's milk on breastfeeding behaviour of premature neonates. *Acta paediatrica*. 96, 368-371.
- Remy, E., Issanchou, S., Chabanet, C., Nicklaus, S., (2013). Repeated exposure of infants at complementary feeding to a vegetable puree increases acceptance as effectively as flavor-flavor learning and more effectively than flavor-nutrient learning. *Journal of nutrition*. 143, 1194-1200.
- Rigal, N., Chabanet, C., Issanchou, S., Monnery-Patris, S., (2012). Links between maternal feeding practices and children's eating difficulties. Validation of French tools. *Appetite*. 58, 629–637.

- Rinck, F., Barkat-Defradas, M., Chakirian, A., Joussain, P., Bourgeat, F., Thevenet, M., Rouby, C., Bensafi, M., (2011). Ontogeny of Odor Liking during Childhood and Its Relation to Language Development. *Chemical Senses*. 36, 83-91.
- Royet, J.-P., Plailly, J., Delon-Martin, C., Kareken, D.A., Segebarth, C., (2003). fMRI of emotional responses to odors: influence of hedonic valence and judgment, handedness, and gender. *NeuroImage*. 20, 713-728.
- Russell, C.G. & Worsley, A., (2007). Do children's food preferences align with dietary recommendations? *Public Health Nutrition*. 10, 1223-1233.

#### S

- Sandgruber, S., Much, D., Amann-Gassner, U., Hauner, H., Buettner, A., (2011). Sensory and molecular characterization of human milk odour profiles after maternel fish oil supplementation during pregnancy and breastfeeding. *Food chemistry*. 128, 485-494.
- Sarnat, H.B., (1978). Olfactory reflexes in the newborn infant. *The Journal of Pediatrics*. 92, 624-626.
- Schaal, B., (1988). Olfaction in infants and children: developmental and functional perspectives. *Chemical Senses*. 13, 145-190.
- Schaal, B., (1991). L'organisation de la perception olfactive au cours de la période périnatale. In: Du nouveau-né au nourrisson. Croissance de l'enfant. Genèse de l'homme, F. Jouen, A. Hénocq (Ed.), eds. PUF, Paris, pp. 63-91.
- Schaal, B., Marlier, L., Soussignan, R., (1995). Responsiveness to the odour of amniotic fluid in the human neonate. *Biology of Neonate*. 67, 397-406.
- Schaal, B. (Ed.) 1997. L'odorat chez l'enfant : perspectives croisées. Press Universitaires de France, Vendôme.
- Schaal, B., Marlier, L., Soussignan, R., (1998). Olfactory function in the human fetus: evidence from selective neonatal responsiveness to the odor of amniotic fluid. *Behavioral Neuroscience*. 112, 1438-1439.
- Schaal, B., Marlier, L., Soussignan, R., (2000). Human foetuses learn odours from their pregnant mother's diet. *Chemical Senses*. 25, 729-737.
- Schaal, B., Soussignan, R., Marlier, L., (2002). Olfactory cognition at the start of life: The perinatal shaping of selective odor responsiveness. In: Olfaction, taste, and cognition. Vol., C. Rouby, B. Schaal, A. Holley, D. Dubois, R. Gervais (Ed.), eds. The Press Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge, UK, pp. 421-440.
- Schaeffer, J.P., (1910). The lateral wall of the cavum nasi in man, with especial reference to the various developmental stages. *Journal of Morphology*. 21, 613-707.

- Schleidt, M. & Genzel, C., (1990). The significance of mother's perfume for infants in the first weeks of their life. *Ethology and Sociobiology*. 11, 145-154.
- Schmidt, H.J. & Beauchamp, G.K., (1988). Adult-like odor preferences and aversions in 3-year old. *Child Development*. 59, 1136-1143.
- Schmidt, H.J. & Beauchamp, G.K., (1989). Sex differences in responsiveness to odors in 9-month-old infants. *Chemical Senses*. 14, 744.
- Schmidt, H.J., (1990). Olfactory perception in infants. *Perfumer & Flavorist*. 15, 57-59.
- Schwartz, C., Issanchou, S., Nicklaus, S., (2009). Developmental changes in the acceptance of the five basic tastes in the first year of life. *British Journal of Nutrition*. 102, 1375-1385.
- Schwartz, C., Chabanet, C., Boggio, V., Lange, C., Issanchou, S., Nicklaus, S., (2010). À quelles saveurs les nourrissons sont-ils exposés dans la première année de vie ? To which tastes are infants exposed during the first year of life? *Archives de Pédiatrie*. 17, 1026-1034.
- Schwartz, C., Chabanet, C., Lange, C., Issanchou, S., Nicklaus, S., (2011a). The role of taste in food acceptance at the beginning of complementary feeding. *Physiology & Behavior*. 104, 646-652.
- Schwartz, C., Scholtens, P., Lalanne, A., Weenen, H., Nicklaus, S., (2011b). Development of healthy eating habits early in life: review of recent evidence and selected guidelines. *Appetite*. 57, 796-807.
- Self, P.A., Horowitz, F.D., Paden, L.Y., (1972). Olfaction in newborn infants. *Developmental Psychology*. 7, 349-363.
- Shimoda, M., Yoshimura, T., Ishikawa, H., Hayakawa, I., Osajima, Y., (2000). Volatile compounds of human milk. *Journal of the faculty of agriculture kyushu university*. 45, 199-206.
- Skinner, J.D., Carruth, B.R., Bounds, W., Ziegler, P.J., (2002). Children's food preferences: A longitudinal analysis. *Journal of the American Dietetic Association*. 102, 1638-1647.
- Smith, T.D. & Bhatnagar, K., (2000). The human vomeronasal organ. Part II: prenatal development. *Journal of anatomy*. 197, 421-436.
- Solbu, E.H., Jellestad, F.K., Straetkvern, K.O., (1990). Children's sensitivity to odor of trimethylamine. *Journal of Chemical Ecology*. 16, 1829-1840.
- Soussignan, R., Schaal, B., Marlier, L., Jiang, T., (1997). Facial and autonomic responses to biological and artificial olfactory stimuli in human neonates: Re-examining early hedonic discrimination of odors. *Physiology & Behavior*. 62, 745-758.

- Soussignan, R., Schaal, B., Marlier, L., (1999). Olfactory alliesthesia in human neonates: Prandial state and stimulus familiarity modulate facial and autonomic responses to milk odors. *Developmental Psychobiology*. 35, 3-14.
- Soussignan, R., Schaal, B., Boulanger, V., Gaillet, M., Jiang, T., (2012). Orofacial reactivity to the sight and smell of food stimuli. Evidence for anticipatory liking related to food reward cues in overweight children. *Appetite*. 58, 508-516.
- Spence, C., (2011). Mouth-watering: the influence of environmental and cognitive factors on salivation and gustatory/flavor perception. *Journal of Texture Studies*. 42, 157–171.
- Stafford, M., Horning, M.G., Zlatkis, A., (1976). Profiles of volatile metabolites in body fluids. *Journal of chromatography*. 126, 495-502.
- Stein, M., Ottenberg, P., Roulet, N., (1958). A study of the development of olfactory preferences. *AMA Archives Neurology & Psychiatry*. 80, 264-6.
- Steiner, J.E., (1977). Facial expressions of the neonate infant indicating the hedonics of foodrelated chemical stimuli. In: Taste and Development: The genesis of sweet preference. Vol., J.M. Weiffenbach (Ed.), eds. US Department of Health, Education and Welfare, Bethesda, Maryland, pp. 173-188.
- Steiner, J.E., (1979). Human facial expressions in response to taste and smell stimulation. *Advances in Child Development and Behavior*. 13, 257-295.
- Strickland, M., Jessee, P.O., Filsinger, E.E., (1988). A procedure for obtaining young children's reports of olfactory stimuli. *Perception & Psychophysics*. 44, 379-382.
- Sullivan, R.M., Taborsky-Barba, S., Mendoza, R., Itano, A., Leon, M., Cotman, C.W., Payne, T.F., Lott, I., (1991). Olfactory classical conditioning in neonates. *Pediatrics*. 87, 511-518.
- Sullivan, S.A. & Birch, L.L., (1994). Infant dietary experience and acceptance of solid foods. *Pediatrics*. 93, 271-277.

#### T

- Trotier, D., Ishii-Foret, A., Djoumoi, A., Bourdonnais, M., Chéruel, F., Faurion, A., (2012). La sensibilité trigéminale chimique. In: Odorat et goût. De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Collection : Synthèses, R. Salesse, R. Gervais (Ed.), eds. Quae, Versailles (FRA).
- Turberg-Romain, C., Lelievre, B., Le Heuzey, M.-F., (2007). Conduite alimentaire des nourrissons et jeunes enfants âgés de 1 à 36 mois en France : évolution des habitudes des mères (Evolution of feeding behavior in mothers of infants and young children from 1 to 36 months old in France). *Archives de Pédiatrie*. 14, 1250-1258.

#### V

- Varendi, H., Porter, R.H., Winberg, J., (1994). Does the newborn baby find the nipple by smell? *Lancet*. 344, 989-990.
- Varendi, H. & Porter, R.H., (2001). Breast odour as the only maternal stimulus elicits crawling towards the odour source. *Acta Pædiatrica*. 90, 372-375.
- VCF Volatile Compounds in Food: database. Nijssen, L.M.; Ingen-Visscher, C.A. van; Donders, J.J.H. (Ed.). Version 14.1, Zeist (The Netherlands): TNO Triskelion, 1963-2013.
- Volatier, J.L., (2000). Enquête individuelle et nationale sur les consommations alimentaires. Enquête INCA, Tec & Doc, Paris.

#### W

- Weiler, U., Font I Furnols, M., Fischer, K., Kemmer, H., Oliver, M.A., Gispert, M., Dobrowolski, A., Claus, R., (2000). Influence of differences in sensitivity of Spanish and German consumers to perceive androstenone on the acceptance of boar meat differing in stakole and androstenone concentrations. *Meat Science*. 54, 297-304.
- World Health Organisation, (2003). Feeding and nutrition of infants and young children. Guidelines for the WHO European region, with emphasis on the former Soviet countries. eds. WHO, Geneva, pp. 1-288.

#### Y

- Yeomans, M.R., (2006). Olfactory influences on appetite and satiety in humans. *Physiology & Behavior*. 87, 800-804.
- Young, J.C., Chu, C.L.G., Lu, X., Zhu, H., (2004). Ester Variability in Apple Varieties As Determined by Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 8086-8093.

#### Z

- Zabetakis, I. & Holden, M.A., (1997). Strawberry Flavour: Analysis and Biosynthesis. Journal of the Science of Food and Agriculture. 74, 421-434.
- Zelano, C., Montag, J., Johnson, B., Khan, R., Sobel, N., (2007). Dissociated Representations of Irritation and Valence in Human Primary Olfactory Cortex. *Journal of Neurophysiology*. 97, 1969-1976.

### **Annexes**

Annexe 1. Synthèse des composés volatils retrouvés dans le lait maternel.

Composés	Qualités odorantes <sup>a</sup>	Références
Acides	• 1•	2007 11
Acetic acid	acidic	Buettner, 2007, Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
Butanoic acid = butyric acid	sweaty	Buettner, 2007, Hausner et al., 2009
Decanoic acid		Shimoda et al., 2000
Undecanoic acid		Shimoda et al., 2000
Dodecanoic acid		Shimoda et al., 2000
2,3-methylbutanoic acid	sweaty	Buettner, 2007
4-Ethyloctanoic acid	goat-like	Buettner, 2007
Nonanoic acid		Shimoda et al., 2000
Octanoic acid		Shimoda et al., 2000
Pentanoic acid	sweaty	Buettner, 2007
Phenylacetic acid	honey-like	Buettner, 2007
Alcanes		
n-decane		Shimoda et al., 2000
Toluene		Shimoda et al., 2000
Ethyl benzene		Shimoda et al., 2000
n-dodecane		Shimoda et al., 2000
n-propylbenzene		Shimoda et al., 2000
m-ethyltoluene		Shimoda et al., 2000
p-ethyltoluene		Shimoda et al., 2000
o-ethyltoluene		Shimoda et al., 2000
1,2,4-trimethylbenzene		Shimoda et al., 2000
n-tridecane		Shimoda et al., 2000
1,2,3-trimethylbenzene		Shimoda et al., 2000
n-tetradecane		Shimoda et al., 2000
n-pentadecane		Shimoda et al., 2000
n-heptadecane		Shimoda et al., 2000
n-octadecane		Shimoda et al., 2000
n-eicosane		Shimoda et al., 2000
Alcènes		
4-methyl-1-pentene		Stafford et al., 1976
Pentenylcyclohexene		Stafford et al., 1976
2-methyl-4-hexene		Stafford et al., 1976
d-limonene		Shimoda et al., 2000
caryophyllene		Shimoda et al., 2000
Trans-anethole		Hausner et al., 2008
Alcools		
1-butanol		Hausner et al., 2009
1-pentanol		Hausner et al., 2009,

Composés	Qualités odorantes <sup>a</sup>	Références
•		Shimoda et al., 2000
1-penten-3-ol		Hausner et al., 2009
(E)-2-penten-1-ol		Shimoda et al., 2000
(Z)-2-penten-1-ol		Shimoda et al., 2000
2-octen-1-ol		Shimoda et al., 2000
1-octen-3-ol	mushroom, musty, moldy	Hausner et al., 2009
7-octen-4-ol		Shimoda et al., 2000
1-octanol		Hausner et al., 2009
Ethanol		Hausner et al., 2009
2-phenylethanol	honey-like	Buettner, 2007
1-dodecanol		Hausner et al., 2009
Hexanol		Stafford et al., 1976, Hausner et al., 2009
2-ethyl-1-hexanol		Hausner et al., 2009
2-ethylhexanol		Shimoda et al., 2000
3-methylhexanol		Shimoda et al., 2000
1-heptanol		Hausner et al., 2009
l-menthol		Hausner et al., 2008
2-propanol		Shimoda et al., 2000
4,8-dimethylnonanolc		Shimoda et al., 2000
1,8-cineole		Kirsch <i>et al.</i> , 2012
2-methoxyphenol (Guaiacol)	phenolic	Buettner, 2007
Aldéhydes		
Butanal		Hausner et al., 2009
3-methylbutanal		Hausner et al., 2009
2,4-decadienal		Shimoda et al., 2000
(E,E)-2,4-decadienal	fatty	Buettner, 2007, Shimoda <i>et al.</i> , 2000, Sandgruber <i>et al.</i> , 2011
Decanal	citrussy, soapy	Buettner, 2007, Hausner et
(E)-2-decenal		al., 2009, Sandgruber et al., 2011, Shimoda et al., 2000 Hausner et al., 2009,
(Z)-2-decenal		Sandgruber <i>et al.</i> , 2011 Shimoda <i>et al.</i> , 2000
Dodecanal		Hausner <i>et al.</i> , 2009
(Z)-Non-2-enal	fatty, tallowy	Buettner, 2007, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(E)-Non-2-enal	fatty, cucumber like, green	Buettner, 2007, Bingham, 2003, Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(E,Z)-Nona-2,6-dienal	cucumber like	Buettner, 2007, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(E,E)-Octa-2,4-dienal	fatty	Buettner, 2007

Composés	Qualités odorantes <sup>a</sup>	Références
(E,E)-Nona-2,4-dienal	fatty	Buettner, 2007, Shimoda <i>et</i> al., 2000
(E,Z)-Nona-2,4-dienal		Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(E,E)-Deca-2,4-dienal	fatty	Buettner, 2007
trans-(4,5)-Epoxy-(E)-dec-2-enal	metallic	Buettner, 2007
Heptanal		Stafford <i>et al.</i> , 1976, Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(E)-4-heptenal		Shimoda et al., 2000
(E)-2-heptenal		Shimoda et al., 2000
(Z)-4-heptenal		Shimoda et al., 2000
(E,E)-2,4-Heptadienal		Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(E,Z)-2,4-Heptadienal		Shimoda <i>et al.</i> , 2000
Hexanal	grassy	Buettner, 2007, Hausner et al., 2009, Stafford et al.,
(E)-2-Hexenal		1976, Shimoda <i>et al.</i> , 2000 Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
Octanal	citrussy, soapy	Sandgruber <i>et al.</i> , 2011, Buettner, 2007, Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> ,
(E)-2-octenal		2000 Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(Z)-2-octenal		Shimoda <i>et al.</i> , 2000
Nonanal	citrussy, soapy	Buettner, 2007, Hausner <i>et al.</i> , 2009, Sandgruber <i>et al.</i> , 2011, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(E)-2-octenal	fatty, perfume-like	Buettner, 2007
n-pentenal	• • •	Shimoda et al., 2000
pentanal		Hausner et al., 2009
(E)-2-pentenal		Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(E)-2-undecanal		Shimoda et al., 2000
Phenylacet-aldehyde	honey-like	Buettner, 2007, Hausner <i>et al.</i> , 2009
Methylhexanal		Stafford et al., 1976
2-methylamylnitrile		Stafford et al., 1976
Methylpropanal	malty	Buettner, 2007
3-methylthio propanal (methional)	cooked potato	Buettner, 2007
Benzaldehyde		Hausner et al., 2009,
Vanillin	vanilla-like	Shimoda <i>et al.</i> , 2000 Buettner, 2007

Composés	Qualités odorantes <sup>a</sup>	Références
Amides		
N,N-dibutylformamide		Shimoda et al., 2000
N,N-dibutylacetamide		Shimoda et al., 2000
Amines		
2-Aminoacetophenone	sweet	Buettner, 2007
3-methylindole (skatol)	facces-like	Buettner, 2007
1H-pyrrol		Shimoda et al., 2000
Cétones		Hausman et al. 2000
2-butanone	<b>D</b> . ((	Hausner <i>et al.</i> , 2009
Butane-2,3-dione (diacetyl)	Buttery	Buettner, 2007
1-hexen-3-one	glue-like, metallic	Buettner, 2007
3-octen-2-one		Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
4-octen-3-one		Shimoda et al., 2000
1-octen-3-one	Mushroom-like	Bingham et al., 2003, Buettner, 2007, Hausner et al., 2009, Sandgruber et al., 2011
3-octanone		Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(Z)-1,5-octadien-3-one	geranium, leaf-like	Buettner, 2007
3,5-octadien-2-one		Shimoda et al., 2000
non-1-en-3-one	mushroom-like	Buettner, 2007
2-nonanone		Bingham, 2003, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
Furaneol		Bingham, 2003, Buettner, 2007
d-carvone		Hausner et al., 2008
Maltol	carmelized	Bingham, 2003
2-pentanone		Hausner <i>et al.</i> , 2009
1-penten-3-one		Hausner et al., 2009
2-heptanone		Shimoda et al., 2000
-		
6-methyl-2-heptanone		Shimoda <i>et al.</i> , 2000, Stafford <i>et al.</i> , 1976
6-methyl-5-hepten-2-one		Shimoda <i>et al.</i> , 2000
2-undecanone		Shimoda et al., 2000
2-tridecanone		Shimoda <i>et al.</i> , 2000
2-propanone		Hausner <i>et al.</i> , 2009
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-		Buettner, 2007
2(5H)-furanone (sotolon)		Ductifici, 2007
$5\alpha$ -Androst-16-en- $3\alpha$ -one	Urine-like, animalic	Buettner, 2007
p-menthan-3-one		Shimoda et al., 2000
ethylcyclopentanone		Stafford et al., 1976
1		•

Composés	Qualités odorantes <sup>a</sup>	Références
ethylcyclohexanone	<del>-</del>	Stafford et al., 1976
ethylcyclohexenone		Stafford et al., 1976
geranylacetone		Shimoda et al., 2000
Esters		
Ethyl decanoate		Shimoda et al., 2000
Methyl dodecanoate		Shimoda et al., 2000
Ethyl dodecanoate		Shimoda et al., 2000
Methyl tetradecanoate		Shimoda et al., 2000
Methyl hexadecanoate		Shimoda et al., 2000
Furanes		
2-pentylfuran		Stafford <i>et al.</i> , 1976, Hausner <i>et al.</i> , 2009
acetonylfuran		Stafford et al., 1976
aminopentanylfuran		Stafford et al., 1976
2-ethylfuran		Hausner et al., 2009
Lactones		
δ-Dodecalactone	sweet	Buettner, 2007, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
γ- Dodecalactone		Sandgruber et al., 2011
γ-Nonalactone	coconut like,flowery	Buettner, 2007, Sandgruber <i>et al.</i> , 2011
γ-decalactone	sweet, coconut like	Buettner, 2007
δ-Decalactone	coconut like	Buettner, 2007, Sandgruber <i>et al.</i> , 2011
(Z)-6-γ-Dodecenolactone	peach like, green	Buettner, 2007
Pyrazine		
3-isobutyl-2- methoxypyrazine	Bell pepper-like	Buettner, 2007
Terpènes		
α-Pinene	pine, resin, turpentine	Hausner et al., 2009
β-Pinene	pine, resin, woody	Hausner et al., 2009
δ-3-Carene	lemon, resin	Hausner et al., 2009
p-Cymene	solvent, gasoline, carrot	Hausner et al., 2009
Myrcene	herbaceous	Hausner et al., 2009
Limonene	lemon	Hausner et al., 2009
Eucalyptol	spicy, camphor-like	Hausner et al., 2009
γ-Terpinene	lemon, herbaceous	Hausner et al., 2009
α-Terpineolene	herbal, floral, pine, lemon	Hausner et al., 2009
Citronellal	lemon	Hausner et al., 2009
d-Camphor	camphor	Hausner et al., 2009
Linalool	citrussy, flowery	Buettner, 2007, Hausner et
	J , J	, , ,

Composés	Qualités odorantes <sup>a</sup>	Références
		al., 2009
α-Terpineol	lilac	Hausner <i>et al.</i> , 2009, Shimoda <i>et al.</i> , 2000
(E)-β-Caryophyllene	wood, spice, terpentine	Hausner <i>et al.</i> , 2009
β-Ionone	violet-like	Buettner, 2007

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>Les qualités odorantes ont été rapportées par Buettner (2007) sauf pour la classe chimique des terpènes dont les qualités odorantes ont été rapportées par Hausner *et al.* (2009).

**Annexe 2.** Méthodologie utilisée lors de l'étude exploratoire visant à étudier les liens entre performances olfactives et appréciation/rejet alimentaire, en relation avec les performances linguistiques.

# 1. Participants

L'étude de ces liens a été réalisée auprès de 33 enfants (20 filles et 13 garçons) de grande section de maternelle âgés en moyenne ( $\pm$  SD) de 6,1  $\pm$  0,5 ans. Deux écoles dijonnaises ont participé à l'étude : l'école Saint Dominique (n=10) et l'école Notre Dame (n=23).

# 2. Stimuli olfactifs

Lors du test de seuil, décrit ci-dessous, nous avons utilisé la triméthylamine, ainsi qu'un arôme alimentaire de cannelle (Tableau 8).

Afin de déterminer le seuil de détection des enfants pour la triméthylamine, nous avons utilisé les concentrations suivantes :  $1.7 \times 10^{-06}$ ,  $1.7 \times 10^{-05}$ ,  $1.7 \times 10^{-04}$ ,  $1.7 \times 10^{-03}$  et  $1.7 \times 10^{-02}$  mL/L.

Les odorants et arômes alimentaires utilisés lors des tests d'identification et hédoniques sont ceux décrits dans le tableau 8.

Tableau 8. Odorants et arômes utilisés lors des tests olfactifs.

Odorants	Concentrations
Acide butyrique (fromage) <sup>c</sup>	$0.0025 mL/L^a$
Triméthylamine (poisson) <sup>d</sup>	$0.017~\mathrm{mL/L^b}$
Disulfure de diméthyle (légumes type chou) <sup>d</sup>	$0.075~\text{mL/L}^{\text{a}}$
Arômes alimentaires	Concentrations
Orange <sup>e</sup>	$10~\mathrm{mL/L}$
Pêche <sup>e</sup>	$10~\mathrm{mL/L}$
Pomme <sup>e</sup>	5 mL/L
Cannelle <sup>e</sup>	10 mL/L

<sup>a</sup>dilué dans de l'huile minérale (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France), <sup>b</sup>dilué dans de l'eau (Evian, France), <sup>c</sup>fourni par Sigma-Aldrich, <sup>d</sup>fourni par Symrise, Clichy la Garenne, France, <sup>e</sup>fourni par Meilleur du Chef, Bassussarry, France.

# 3. Procédure

Les tests ont eu lieu en école. Les enfants étaient testés individuellement dans une salle conjointe à celle de la salle de classe. Le test comprenait plusieurs tâches. Tout d'abord, l'état de faim des enfants était mesuré, puis un test de seuil était réalisé, suivi d'un test de fluence verbale puis d'un test d'identification des odeurs et enfin un test hédonique. Afin d'évaluer l'appréciation alimentaire des enfants, des questionnaires étaient complétés par leurs parents.

## Considérations éthiques

Le protocole mis en place pour cette étude a reçu un avis favorable du comité de Protection des Personnes (CPP) Est 1 le 25 mai 2012, ainsi que l'autorisation de l'ANSM. Les parents des enfants ayant participé à l'étude ont donné leurs consentements écrits éclairés.

## Mesure de l'état de faim

Afin de s'assurer que les enfants étaient tous dans les mêmes conditions physiologiques au moment des tests, leur état de faim était évalué. Une échelle visuelle en 5 points allant de « Pas du tout faim », « Pas faim », « Moyen », « Faim », à « Très faim » a été

utilisée. L'utilisation d'une échelle avec des enfants pré-lecteurs peut paraître surprenante. Toutefois, une étude menée dans notre laboratoire a mis en évidence que l'utilisation de ce type d'échelle visuelle (allant jusqu'à 9 points), utilisé pour une évaluation hédonique, était adaptée après une explication détaillée à l'enfant.

Les résultats ont mis en évidence que, peu importe l'heure du test, 39% des enfants ont déclaré avoir très faim. Il serait pertinent de compléter cette mesure avec une seconde où il s'agirait de demander à l'enfant : « Si je te propose du pain maintenant, tu en mangerais ? ». Si la réponse à cette question est affirmative, une photo de pain découpé en tranche serait proposé à l'enfant et il serait invité à répondre à la question suivante : « Tu en prendrais combien ? ».

### Test de seuil

Ce test était découpé en deux parties. La première visait à initier l'enfant au test. Une odeur de cannelle était utilisée, à une concentration supraliminaire pour des adultes, pour cette première tâche. Pour cela, 2 séries de 4 flacons étaient proposées. Parmi chaque série, seul un flacon contenait l'odeur de cannelle et il était demandé aux enfants : « Quel flacon ne sent pas comme les autres ? ». La seconde partie de ce test visait à évaluer le seuil de détection de la triméthylamine. Pour cela, 5 séries de flacons contenant des concentrations croissantes de triméthylamine ont été proposées aux enfants. Chaque série était répétée une fois. Ce test consistait en la présentation de 4 flacons (4-AFC). Parmi ces flacons, seul un contenait l'odeur testée. L'enfant était invité à indiquer parmi ces 4 flacons « celui qui avait une odeur différente ».

## Tests de fluence verbale

#### Ces tests visaient à évaluer :

- la fluence dite « générale » des enfants en les interrogeant sur les noms d'animaux. La consigne donnée aux enfants était la suivante : « Donne moi tous les noms d'animaux qui existent que tu connais, le plus possible. Tu as une minute, tu es prêt(e) ? Vas-y! » - la fluence dite « olfactive » en leur demandant de citer les noms d'odeurs qu'ils connaissent. La consigne donnée aux enfants était la suivante : « Donne moi toutes les odeurs que tu connais, cela peut être une odeur de fleur, une odeur d'un aliment, une odeur d'un objet. Tout ce qui te passe par la tête qui sent quelque chose. Tu as une minute, tu es prêt(e) ? Vas-y! »

Une minute était dédiée à chacune de ces tâches.

# Test d'identification

Il était demandé aux enfants d'identifier spontanément l'odeur de triméthylamine, ainsi que des odeurs distractrices agréables (pomme, orange et pêche) et désagréables (acide butyrique, disulfure de diméthyle). La consigne donnée à l'enfant était la suivante : « A ton avis, quelle est cette odeur ? ».

## Test hédonique

Les mêmes odeurs que lors du test d'identification étaient présentées aux enfants et la question suivante leur était posée : « Comment aimes-tu cette odeur ? ». Ils devaient noter leurs appréciations à l'aide d'une échelle continue adaptée aux tests avec les enfants. L'échelle avait deux faces :

- La face « enfant » était composée de 5 smileys allant d'un smiley renfrogné à un smiley souriant (Figure 18). L'enfant était invité à déplacer un curseur et à le placer sur le smiley de son choix, correspondant à son appréciation. Afin de familiariser l'enfant avec l'échelle, celle-ci leur était présentée avant le test et son utilisation leur était expliquée en détail. Pour aider les enfants à comprendre l'utilisation de l'échelle, diverses questions ne concernant pas les odeurs leur étaient posées comme par exemple : « Comment aimes-tu regarder la télévision » ou « Comment aimes-tu aller chez le docteur ? ». Lorsque l'expérimentateur jugeait que l'enfant utilisait correctement l'échelle, le test débutait.
- La face « expérimentateur » était composée d'une réglette, permettant d'obtenir une note d'appréciation selon le placement du curseur de l'enfant (Figure 19).



**Figure 18.** Echelle visant à évaluer l'appréciation des enfants « Face enfant ».



Figure 19. Echelle visant à évaluer l'appréciation des enfants « Face expérimentateur ».

Questionnaires de consommations et d'appréciation alimentaire

Afin d'évaluer les consommations et l'appréciation alimentaires des enfants, les parents étaient invités à répondre à un questionnaire. Le questionnaire portait sur 7 catégories d'aliments : légumes, condiments et aromates, viandes, poissons, fromages, fruits, desserts/gâteaux/sucreries. Seuls certains aliments étaient présents sur le questionnaire. En effet, nous voulions connaître les consommations alimentaires de la catégorie « poisson » et nous avons inclus d'autres catégories d'aliments afin de ne pas attirer l'attention sur la catégorie cible. Il était demandé aux parents de renseigner la fréquence de consommation *via* une échelle à 5 points allant de « Tous les jours ou presque », « 1 à 3 fois par semaine », « 1 à 3 fois par mois », « Moins d'une fois par mois » à « Jamais ». S'il cochait la case « Jamais », ils étaient invités à expliquer la raison de cette non-consommation en cochant une des cases suivantes : « Il a déjà goûté mais il n'a pas aimé », « Il n'a jamais voulu y goûter », « Je ne lui en ai jamais donné », « Il y est allergique/intolérant », « Autres (préciser) ». Il leur était également demandé d'indiquer comment leur enfant appréciait les aliments via une échelle linéaire allant de « Pas du tout » à « Beaucoup ». Le questionnaire est placé à la fin de cette annexe.



# Questionnaire de préférences et de fréquence de consommation alimentaire

Un code est attribué à chaque enfant afin de traiter les données de façon anonyme. Le code attribué à votre enfant est le :

Votre enfant est :  $\square$  une fille

Date de naissance de votre enfant :

□ un garçon

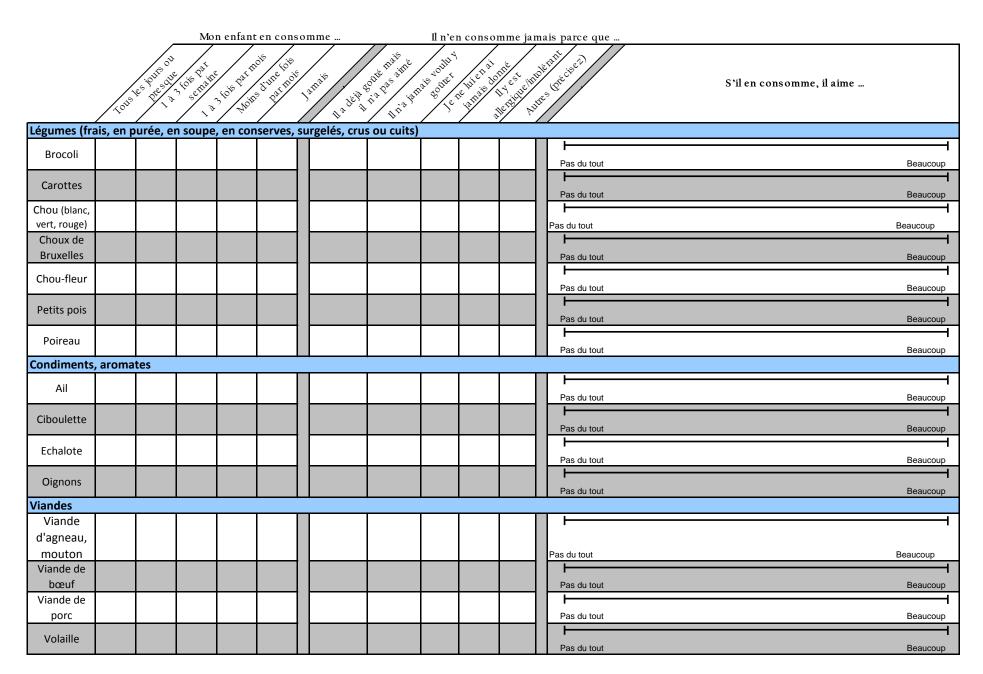
Ce rapide questionnaire porte sur l'année qui vient de s'écouler.

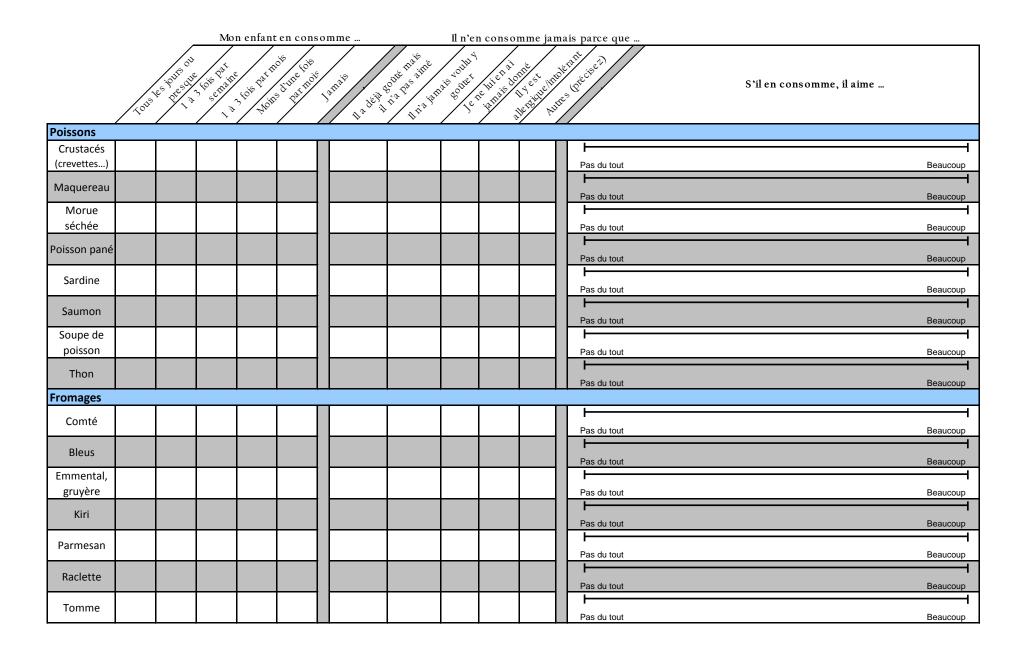
Merci d'indiquer pour chaque aliment :

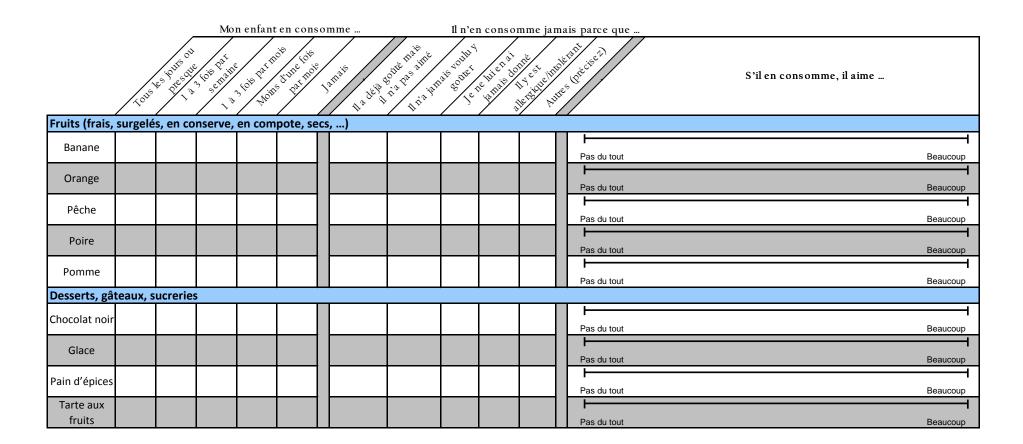
- la fréquence de consommation de votre enfant (cocher la case correspondante)
- la raison de non consommation (cocher la case correspondante)
- l'appréciation de votre enfant (placer un trait vertical sur l'échelle)

N'hésitez pas à nous contacter pour toute question par téléphone au 03.80.69.37.01 ou par mail : sandra.wagner@dijon.inra.fr.









**Annexe 3**. Résumé de la présentation des résultats portant sur les déterminants influençant l'appréciation des légumes présenté au Workshop OPALINE en octobre 2012.

# Modelling the early determinants of food preferences in the **OPALINE** cohort

S. Nicklaus<sup>1,2,3\*</sup>, C. Chabanet<sup>1,2,3</sup>, C. Lange<sup>1,2,3</sup>, M. Visalli<sup>1,2,3</sup>, C. Laval<sup>1,2,3</sup>, C. Schwartz<sup>1,2,3</sup>, S. Wagner<sup>1,2,3</sup>, P. Schlich<sup>1,2,3</sup>, S. Monnery-Patris<sup>1,2,3</sup>, N. Rigal<sup>4</sup>, B. Schaal<sup>1,2,3</sup>, L. Marlier<sup>5</sup>, V. Boggio<sup>6</sup>, S. Issanchou<sup>1,2,3</sup>

The OPALINE project aimed at understanding the determining factors of the development of food preferences up to the age of 2 years by following a cohort of children with a longitudinal recording of perinatal and postnatal feeding experiences, of children's sensitivity to food tastes and odours and of parental feeding practices. The aim was to conjointly analyze the datasets to draw an overall picture of these potential determinants of food preferences and of their relative weight over the course of the first two years.

The recruitment of a cohort of children (N=314) was conducted thanks to the help of local health and childhood professionals. The milk, complementary and table feeding received by each child and by his/her mother during pregnancy and lactation was recorded using food diaries. The acceptance of food tastes and odours was evaluated at different ages in the laboratory. The family environment was evaluated through questionnaires (parental feeding style; strategies when the child refuses to taste a food; attitudes or criteria to buy foods for children). Food preferences regarding the past three months were measured using questionnaires at 15, 18, 21 and 24 months old. Analyses were based on the Structural Equation Modelling method, to model the causal relationships between these factors and food preferences at weaning and up to the age of 2 years. This presentation will mainly focus on the determinants of liking of vegetables (LVeg), the least liked food category at 2 years.

Liking of vegetables at weaning was positively correlated with the variety of vegetables introduced at the beginning of weaning, but it was correlated neither with breastfeeding duration nor with variety of vegetables consumed by the mother during pregnancy (or lactation), and nor with age at weaning. At one year, LVeg was positively correlated with acceptance of bitter taste and of two vegetable odours, 2-isobutyl-3-methoxypyrazine and dimethyl disulphide. LVeg at weaning was positively correlated with LVeg at the later ages up to 2 years. LVeg during the second year was strongly related with the frequency of exposure to vegetables, but surprisingly negatively related with variety. Finally, at 2 years, "permissive" parental feeding strategies were associated to a lower LVeg.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>CNRS UMR6265Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation F-21000 Dijon France

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> INRA UMR1324Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation F-21000 Dijon France

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Université de Bourgogne, UMR Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, F-21000 Dijon France

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Université Paris-Ouest, Paris, France

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> CNRS, Université de Strasbourg

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Université de Bourgogne, Faculté de Médecine, F-21000 Dijon France

#### Résumé

Si le rôle de la gustation sur le développement des préférences alimentaires a été étudié par le passé, il n'en ait pas de même du rôle de l'olfaction. Les objectifs de ce travail de thèse étaient d'étudier les réponses olfactives des nourrissons, leur dynamique au cours des deux premières années de vie, ainsi que leurs relations avec les expositions aromatiques précoces, l'appréciation alimentaire et le comportement néophobique des nourrissons.

Ce travail, s'inscrivant dans le cadre de l'étude longitudinale OPALINE (Observatoire des Préférences ALImentaire du Nourrisson et de l'Enfant), a permis d'évaluer les réponses olfactives envers des odeurs alimentaires agréables, comme la vanille, et désagréables, comme le poisson, chez les nourrissons de 8, 12 et 22 mois. Les résultats révèlent que, dès 8 mois, les nourrissons sont capables de discriminer les odeurs agréables des odeurs désagréables. Toutefois, si des réponses d'évitement envers certaines odeurs désagréables sont observées, aucune réponse d'attraction n'est décrite au cours des deux premières années de la vie. De plus, nos résultats mettent également en évidence une certaine plasticité des réponses olfactives. Seules les réponses à quelques odeurs alimentaires désagréables sont stables entre deux âges consécutifs suggérant que les réponses hédoniques négatives vis-à-vis d'odeurs alimentaires apparaîtraient plus précocement que les réponses hédoniques positives.

Concernant les effets des expositions aromatiques précoces, il apparaît que plus un nourrisson a été exposé, *in utero* ou durant l'allaitement, aux notes aromatiques désagréables de certains aliments, moins il aura de réponses d'évitement face aux odeurs de ces aliments à 8 mois, mais pas au-delà.

Lors de la diversification alimentaire (8 mois), la composante olfactive ne semble pas avoir d'impact sur l'appréciation des aliments nouvellement introduits. En revanche, à 12 mois, la composante olfactive pourrait jouer un rôle de modulateur dans l'appréciation des aliments à flaveur prononcée. Ce rôle n'est plus observé à 22 mois

Nos résultats mettent également en évidence que la réactivité différentielle à différentes odeurs, et non à différentes saveurs, est liée au degré de néophobie du nourrisson, suggérant que seules les odeurs contribuent à la méfiance envers les aliments nouveaux au cours de la seconde année de vie.

Ce travail met en avant que les expositions aromatiques précoces peuvent influencer les réponses olfactives au début de la diversification alimentaire, période favorable à l'acceptation des aliments. Autour de l'âge d'un an, quand le répertoire alimentaire des nourrissons s'élargit et intègre des aliments dits « adultes », l'odorat jouerait un rôle clé dans l'appréciation des aliments en agissant comme un système d'alarme protégeant le nourrisson des aliments potentiellement dangereux.

Mots-clés: nourrissons, olfaction, exposition aromatique précoce, appréciation alimentaire, néophobie

#### **Abstract**

The role of taste on food preferences has already been investigated, however, little is known about the role of olfaction. The main objectives of this work were to assess infants' olfactory responses, their dynamic during the first two years of life, and also their links with early food exposures, food liking and infants' food neophobia.

This work was conducted within a longitudinal study named OPALINE (Observatory of food preferences in infants and children). Olfactory responses were assessed, in 8-, 12- and 22-month-old infants, towards pleasant odours, such as vanilla, and unpleasant odours, such as fish. The results reveal that, from 8 months, infants can discriminate pleasant and unpleasant odours. However, only avoidance responses are observed towards some unpleasant odours; no attraction responses are highlighted during the first two years of life. Our results also suggest a plasticity of olfactory responses. Only responses towards some unpleasant odours are stable between two consecutive ages, suggesting that negative hedonic responses towards food odours would appear earlier than positive ones.

Concerning the effects of early food exposure, it appears that the more an infant has been exposed, *in utero* or during breastfeeding, to some unpleasant food odours, the least s/he exhibits avoidance responses towards these food odours at 8 months, but not beyond.

When complementary feeding has begun (8 months), olfaction does not seem to impact new food liking. However, at 12 months, olfaction can play a role of modulator in liking of the foods with strong flavour. This role is not observed anymore at 22 months.

Our results also highlight that differential olfactory responses, and not gustatory ones, are linked to infants' food neophobia suggesting that only odours contribute to the suspicion towards unfamiliar foods during the second year of life.

This work stresses that early sensory exposures influence responses towards unpleasant odours at the onset of complementary feeding, which is a favourable period to food acceptance. Then, olfaction can play a role in food liking by acting as an alarm system protecting the infants against potentially harmful food.